UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

ANNÉE 1934-1935

N° 249

RECHERCHES
SUR
L'EFFICACITÉ DES GARANTIES
IMPOSÉES PAR LA LOI EN FRANCE POUR LA VENTE COMMERCIALE DES PRODUITS D'ORIGINE MICROBIENNE

Thèse pour le Doctorat de l'Université

Mention « Pharmacie »

présentée et soutenue publiquement le Vendredi 21 Décembre 1934

PAR

Mme CARRÈRE, née QUENET Renée

Licenciée en Sciences - Ancienne interne des Hôpitaux
née à Paris (Seine), le 18 août 1907.

Examinateurs de la Thèse

MM. AUBERTIN, professeur..... *Président.*
LABAT, professeur ....
GOLSE, professeur ..... *Juges*
R. SIGALAS, professeur .....

BORDEAUX

Imprimerie J. BIÈRE, 18-20-22, rue du Peugue

1934

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543914_0061

UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

ANNÉE 1934-1935

N° 249

RECHERCHES
SUR
L'EFFICACITÉ DES GARANTIES
IMPOSÉES PAR LA LOI EN FRANCE POUR LA VENTE COMMERCIALE DES PRODUITS D'ORIGINE MICROBIENNE

Thèse pour le Doctorat de l'Université

Mention « Pharmacie »

présentée et soutenue publiquement le Vendredi 21 Décembre 1934

PAR

Mme CARRÈRE, née QUENET Renée

Licenciée en Sciences - Ancienne interne des Hôpitaux
née à Paris (Seine), le 18 août 1907.

Examinateurs de la Thèse

MM. AUBERTIN, professeur..... *Président.*
LABAT, professeur .... *Juges*
GOLSE, professeur ..... *Juges*
R. SIGALAS, professeur ..... *Juges*

BORDEAUX

Imprimerie J. BIÈRE, 18-20-22, rue du Peugue

1934

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE BORDEAUX

Doyen ..... M. MAURIAC
Assesseur ..... M. GUYOT
Doyen honoraire ..... M SIGALAS

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. POUSSON, MOURE, W. DUBREUILH
RIVIÈRE, BARTHE, DENIGES, SELLIER, BEILLE, CASSAET, CHAVANNAZ, PACHON

PROFESSEURS

	MM.		MM.
Clinique médicale	MAURIAC. DUPÉRIÉ	Clinique chirurgicale infantile et orthopédie	ROCHER
Clinique chirurgicale	BEGOUIN.	Clinique médicale des maladies des enfants	CRUCHET
Clinique chirurgicale et gynécologique	GUYOT.	Chimie biologique et médicale	DELAUNAY
Pathologie et thérapeutique générales	CARLES.	Physique médicale et pharmaceutique	SIGALAS.
Clinique d'accouchements.	ANDERODIAS.	Médecine coloniale et clinique des maladies exotiques	BONNIN
Anatomie pathologique et microscopie clinique	SABRAZES.	Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	PETGES.
Anatomie	VILLEMIN.	Clin. des mal. des voies urinaires	DUVERGEY
Anatomie générale et histologie	G. DUBREUIL.	Clinique des maladies nerveuses et mentales	ABADIE
Hygiène	LEURET.	Clinique d'Oto-rhino-laryngologie	PORTMANN.
Médecine légale et déontologie	LANDE	Toxicologie et hygiène appliquée	LABAT.
Electroradiologie et clin. d'électricité médicale	RÉCHOU	Hydrologie thérapeutique et climatologie	CREYX
Chimie	CHELLE.	Clinique dentaire	CAVALIE.
Botanique et matière médicale	GOLSE.		
Pharmacie	DUPOUY.		
Zoologie et parasitologie.	MANDOUL.		
Médecine expérimentale.	AUBERTIN.		
Clinique ophtalmologique.	TEULIERES		

LACOSTE (Histologie). PERY (Obstétrique) PERRENS (Maladies mentales).
PAPIN (Chirurgie générale). R. SIGALAS (Parasitologie et sciences naturelles). JEANNENEY (Chirurgie générale).

AGRÉGÉS EN EXERCICE

	MM.		MM
Anatomie	DUBECQ.	Chirurgie générale	CHARRIER. LOUBAT.
Anatomie	DUFOUR.	Obstétrique	RIVIERE.
Physiologie	FABRE.	Ophtalmologie	BEAUVIEUX
Médecine générale	DAMADE. PIECHAUD. DELMAS-MARSALET. DE GRAILLY FONTAN	Oto-Rhino-Laryngologie	DESPONS
		Dermatologie et syphiligraphie	JOULIA.
		Physique médicale	WANGERMEZ
		Chimie générale pharmaceutique et toxicologie	VITTE.

COURS COMPLÉMENTAIRES :

	MM.		MM.
Physiologie	FABRE	Ophtalmologie	CABANNES (en congé
Médecine opératoire	PAPIN	Puériculture	FAUGERE
Accouchements	PERY.	Pharmacie chimique	VITTE
Pathologie médicale	DELMAS-MARSALET.	Zoologie et parasitologie	R. SIGALAS

Orthopédie chez l'adulte, pour les accidentés du travail, les mutilés de guerre et les infirmes ..... MM. N

Le Secrétaire de la Faculté : ROUGERIE

Par délibération du 5 août 1879, la Faculté a arrêté que les opinions émises dans les Thèses qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle n'entend ne leur donner ni approbation ni improbation.

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

A MA MERE — A MON PERE

A MON MARI

A TOUTE MA FAMILLE

A MA BELLE-FAMILLE

A MES MAITRES DE LA FACULTE

DE MEDECINE ET DE PHARMACIE

A MES CHEFS DE SERVICES D'INTERNAT

A MES CAMARADES DE FACULTE ET DE LABORATOIRES

A MES AMIS

A Monsieur le Professeur BARTHE

PROFESSEUR HONORAIRE
A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE BORDEAUX
OFFICIER DE LA LÉGION D'HONNEUR
OFFICIER DE L'INSTRUCTION PUBLIQUE

Qui fut notre premier Maître à la Faculté et nous a toujours témoigné une très grande bienveillance.

A Monsieur le Professeur GOLSE

PROFESSEUR DE BOTANIQUE ET MATIÈRE MÉDICALE
A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE BORDEAUX
DOCTEUR ES SCIENCES PHYSIQUES
PHARMACIEN DES HOPITAUX
OFFICIER DE L'INSTRUCTION PUBLIQUE

En témoignage de notre reconnaissance.

A MON PRESIDENT DE THESE

Monsieur le Professeur AUBERTIN
professeur de médecine expérimentale
médecin des hopitaux
officier de l'instruction publique

En remerciement du grand honneur qu'il nous a fait en acceptant la présidence de cette thèse.

AVANT-PROPOS

Avant de quitter le laboratoire de Médecine expérimentale, nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à M. le professeur Aubertin. Après nous avoir admise à suivre, il y a trois ans, son enseignement et les travaux pratiques qui le complètent, il a bien voulu nous accepter dans son laboratoire durant ces deux dernières années pour y préparer une thèse de pharmacie. Nous lui devons le sujet de ce travail et de précieux conseils pour les techniques à suivre.

Nous le remercions très sincèrement de nous avoir permis par le choix de ce sujet, d'examiner diverses questions de bactériologie et de nous avoir rendu par cela même le plus grand service pour l'exercice futur de notre profession. Qu'il veuille bien trouver dans ce travail un faible témoignage de notre reconnaissance.

Nous remercions M. le Dr Lefèvre d'avoir bien voulu nous communiquer l'observation qui a servi de point de départ à ce travail.

Nos remerciements vont également à nos camarades du laboratoire de Médecine expérimentale qui nous ont toujours montré la plus grande complaisance et nous ont aidée de leur expérience.

INTRODUCTION

Parmi les spécialités pharmaceutiques il est une catégorie de produits soumise à une réglementation spéciale : ce sont les sérums, les vaccins et en général tous les produits d'origine microbienne. Cette distinction tient aux soins particuliers qu'on doit apporter dans leur préparation, la moindre négligence pouvant entraîner des conséquences désastreuses, comme l'a constaté M. le Dr Lefèvre qui a bien voulu nous communiquer l'observation suivante :

Mme X..., âgée de 49 ans, a été opérée en 1927 pour ulcère de l'estomac par le Dr Lefèvre qui lui a fait une gastrectomie; il a placé un drain au contact du pancréas et a versé dans la cavité abdominale de l'antivirus intestinal F à base de filtrats de cultures d'entérocoques, de staphylocoques et de colibacilles, afin d'éviter l'infection, méthode préconisée par Gosset. L'opération ne présenta aucune difficulté.

Vingt-quatre heures après l'intervention, la malade eut une brusque ascension de la température qui atteignit 39°; l'abdomen se ballonna. A l'aide d'une seringue on préleva par le drain, aseptiquement, un liquide louche qui fut envoyé au laboratoire de M. le professeur Mauriac; l'examen montra qu'il s'agissait d'une culture pure d'entérocoques.

Peu de jours après la malade mourut emportée par cette péritonite.

Comme il était à présumer que l'infection péritonéale à entérocoques avait été provoquée, dans l'observation précédente par l'introduction dans l'abdomen d'un antivirus non stérile, M. le professeur Aubertin nous chargea d'étudier la valeur des diverses réglementations en cours au point de vue des garanties qu'offrent les présentations commerciales de vaccins ou de spécialités similaires.

CHAPITRE PREMIER

LOIS ET DECRETS RELATIFS A LA FABRICATION ET A LA VENTE DES SERUMS ET VACCINS EN FRANCE

La fabrication et la vente des vaccins, sérums et tout produit d'origine microbienne sont soumises à une réglementation spéciale qui a fait l'objet de la loi du 25 avril 1895, actuellement abrogée et remplacée par celle du 14 juin 1934.

Des mesures avaient été prises antérieurement à cette première loi pour protéger la santé publique contre l'invasion des remèdes, panacées et recettes diverses, la plupart inutiles, sinon nuisibles.

L'Ordonnance royale du 20 décembre 1820 avait organisé l'Académie nationale de médecine, « spécialement instituée pour répondre aux demandes du gouvernement sur tout ce qui intéresse la santé publique et principalement sur la propagation de la vaccine, l'examen des remèdes nouveaux et des remèdes secrets tant internes qu'externes ».

Le décret du 3 mai 1850 précisa son rôle : « Les remèdes qui auront été reconnus nouveaux et utiles par l'Académie nationale de médecine et dont les formules, approuvées par le Ministère de l'Agriculture et du Commerce, conformément à l'avis de cette Compagnie savante, auront été publiées dans son *Bulletin*, avec l'assentiment des inventeurs ou possesseurs, cesseront d'être considérés comme remèdes secrets. Ils pourront être, en conséquence, vendus librement par les pharmaciens, en attendant que la recette soit insérée dans une nouvelle édition du Codex. »

Ce décret ne prévoyait pas l'examen des conditions de préparation et d'exploitation des nouveaux remèdes.

Cette lacune fut particulièrement mise en évidence grâce à l'essor inattendu pris par la sérothérapie et grâce à la vulgarisation de la bactériologie. L'emploi du sérum antidiphtérique entra dans la pratique médicale en 1894, après la communication de Roux et Martin au Congrès d'Hygiène de Budapest. Des laboratoires privés s'installèrent rapidement afin de suppléer à l'Institut Pasteur, alors dans l'impossibilité de faire face aux nombreuses demandes de sérum. Des échecs survenus après emploi des nouveaux produits amenèrent une enquête et l'on découvrit que certains de ces sérums, appelés antidiphtériques étaient totalement dépourvus de spécificité.

Le 28 mai 1895, M. Bourillon, rapporteur à la Commission spéciale de la Chambre des Députés fit un rapport sur le danger de laisser discréditer par une concurrence frauduleuse un sérum qui avait fait ses preuves, et demanda aux Pouvoirs publics de prendre des mesures en vue de garantir l'innocuité et l'efficacité des sérums antidiphtériques vendus par les divers laboratoires. Un projet de loi présenté au Sénat par Marcelin Berthelot, le 11 avril 1895, fut adopté et, le 25 avril 1895, une loi spéciale concernant les vaccins, sérums et produits analogues fut votée.

Loi du 25 avril 1895.

Relative à la préparation, la vente et la distribution des sérums thérapeutiques et autres produits analogues.

Article premier. — Les virus atténués, sérums thérapeutiques, toxines modifiées et produits analogues pouvant servir à la prophylaxie et à la thérapeutique de maladies contagieuses et les substances injectables d'origine organique non définies chimiquement, appliquées aux traitements des affections aiguës ou chroniques, ne pourront être débités, à titre gratuit ou onéreux, qu'autant qu'ils auront été, au point de vue soit de la fabrication, soit de la provenance, l'objet d'une autorisation de Gouvernement, rendue après avis du Comité consultatif d'hygiène publique de France et

de l'Académie de Médecine. Ces produits ne bénéficieront que d'une autorisation temporaire et révocable. Ils seront soumis à une inspection exercée par une commission nommée par le ministre compétent.

Art. 2. — Ces produits seront délivrés au public par le pharmacien, sur ordonnances médicales. Chaque bouteille ou récipient, portera la marque du lieu d'origine et la date de sa fabrication. En cas d'urgence, les médecins sont autorisés à fournir à leur clientèle ces mêmes produits. Lorsqu'ils seront destinés à être délivrés à titre gratuit aux indigents, les flacons contenant ces produits porteront dans la pâte du verre, les mots « Assistance publique, gratuit » Ils pourront alors être déposés, en dehors des officines de pharmaciens et sous la surveillance d'un médecin, dans des établissements d'assistance désignés par l'administration qui auront la faculté de se procurer directement ces produits. Toutes ces prescriptions ne s'appliquent pas au vaccin jennerien humain ou animal.

Art. 3. — La livraison des substances mentionnées à l'article premier, à quelque titre qu'elle soit faite, sera assimilée à la vente et soumise aux dispositions de l'art. 423, Code pénal et de la loi du 27 mars 1851. En conséquence, seront punis des peines portées par l'art. 423 du Code pénal et par la loi du 27 mars 1851, ceux qui auront trompé sur la nature des dites substances qu'ils sauront être falsifiées ou corrompues et ceux qui auront trompé ou tenté de tromper sur la qualité des choses livrées.

Art. 4. — Toutes autres infractions aux dispositions de la présente loi seront punies d'une amende de 16 à 1.000 francs.

Cette loi a-t-elle donné toutes les garanties désirables ?

L'expérience de trente années a montré les conséquences d'une certaine ambiguïté dans le texte. La loi ne précise pas quand aura lieu l'inspection exercée par la Commission nommée par le ministre compétent : en fait, elle a lieu au moment de la demande d'autorisation formulée par l'intéressé; elle n'a pas pour objet le contrôle proprement dit des vaccins, mais seulement leurs conditions d'obtention. Si le fabricant vient à apporter dans la composition du produit déjà autorisé, dans l'installation de son laboratoire ou dans le personnel compétent, un changement susceptible d'avoir une répercussion sur la valeur du produit, il devra en référer immédiatement à l'Académie de Médecine qui examinera les nou-

velles conditions d'obtention de ce produit : c'est le sens donné à l'article premier de la loi du 25 avril 1895.

Cette loi ne précise pas davantage si l'examen de l'efficacité incombe également à l'Académie de Médecine ; mais cette condition semble contenue implicitement dans le texte. Ainsi en a jugé l'Académie de Médecine en refusant, le 13 février 1923 au Dr K. l'autorisation de vendre un vaccin antityphoïdique bilié ingérable, en donnant pour motif de son refus, que la vaccination *per os*, plus agréable mais moins certaine, tendrait à remplacer la vaccination sous-cutanée sûre et éprouvée. Le Conseil d'Etat, au contraire, émit avis que, d'après le texte même de la loi, l'Académie de Médecine n'a pas à se prononcer sur l'efficacité des remèdes, mais uniquement sur leur innocuité.

S'il suffit qu'un produit ne soit pas nocif pour que l'Académie de Médecine donne un avis favorable, l'esprit qui, dans l'intérêt de la santé publique, a présidé à la création de cette Institution est méconnu : un remède inutile peut être nuisible en trompant la confiance du médecin et en se substituant à une thérapeutique efficace.

P. Cazeneuve, à la séance du 27 janvier 1926 à l'Académie de Médecine, examinant la controverse survenue entre l'Académie et le Conseil d'Etat, reconnaît que dans l'esprit du législateur, l'Académie doit examiner l'innocuité et l'efficacité des produits soumis à son appréciation. Mais a-t-elle les moyens d'investigation suffisants pour se prononcer à coup sûr ? Il prend pour exemple le cas de la fièvre typhoïde expérimentale du cobaye qui diffère tant de la maladie humaine ; comment juger par des essais sur l'animal de l'efficacité d'un vaccin antityphoïdique destiné à l'homme ? P. Cazeneuve conclut en demandant un « règlement d'administration publique qui précisera les conditions d'application de la loi. »

En février 1927, MM. Petit, Goldenberg et Panisset présentent à l'Académie de Médecine un rapport sur « La nécessité d'un contrôle des vaccins ». L'examen devrait porter particulièrement sur la vérification de la stérilité, de la nature

et du taux des germes contenus dans les ampoules. Mais à le considérer de près, le probl me n'est pas des plus simples, et ces auteurs signalent quelques-unes des nombreuses difficultés auxquelles se heurteraient les experts :

1° Au sujet de l'examen de la nature des germes; cette difficulté signalée par MM. Petit, Goldenberg et Panisset peut être résolue par une très exacte déclaration de la composition des vaccins. Voici le texte du rapport de ces auteurs : « Il n'est pas sans intérêt de faire remarquer que d'authentiques vaccins pourraient ne contenir aucun microbe spécifique; on conçoit l'existence possible d'un vaccin anticharbonneux qui ne renfermerait que du bacille pyocyanique; la tâche de l'expert apparaît, en ce cas, singulièrement compliquée et ses conclusions bien incertaines. » Le bacille pyocyanique attaque la bactéridie charbonneuse à l'aide de la pyocyanéine qu'il sécrète; un vaccin anticharbonneux contenant du bacille pyocyanique peut être en effet, un excellent produit, mais le fabricant est tenu d'indiquer sur l'étiquette la composition du vaccin; il doit, dans ce cas envisagé, mentionner la présence de bacilles pyocyaniques, quitte à expliquer dans une notice le choix de ce germe. Si, au contraire, il indique, ou laisse supposer que le vaccin contient du bacille charbonneux, sa déclaration n'est plus exacte.

Nous n'avons pas eu l'occasion de rencontrer l'exemple cité par MM. Petit, Goldenberg et Panisset, mais cependant un fait assez analogue : l'étiquette des vaccins W annonce que les ampoules contiennent 1 milliard de germes en émulsion dans 1 cm^3 de liquide; or, à l'examen du culot de centrifugation nous avons eu beaucoup de peine à trouver quelques bactéries; le prospectus accompagnant le vaccin signale la présence d'un agent lytique, ce qui explique l'absence de germes; mais il serait préférable que le fabricant déclarât, comme c'est obligatoire en Angleterre : « 1 cm^3 de cette préparation renferme les produits de lyse de 1 milliard de germes »; alors que le libellé de la notice et de l'étiquette fait penser qu'il y a à la fois un lysat et une émulsion microbienne. Dans ces condi-

tions l'expert est en droit de conclure que les bacilles ont été détruits par suite d'un chauffage excessif ou du vieillissement. Cette façon de faire est défectueuse et ne peut que favoriser certains vaccins mal préparés et même légitimer une erreur d'étiquette. Un vaccin doit contenir les germes indiqués sur l'étiquette par le fabricant et ne contenir que ces germes.

2° Au sujet de l'efficacité. Ici l'expert est encore plus désarmé : l'essai des vaccins sur l'animal, le seul possible, traduit mal ce qui se passe chez l'homme.

Quant aux antivirus et lysats-vaccins, MM. Petit, Goldenberg et Panisset estiment qu'ils « défient tout contrôle » d'identité et d'efficacité.

L'hypothèse de juger de l'efficacité d'un vaccin par des essais sur l'animal soulève toujours la même critique. Pourtant c'est sur la souris à qui l'on inocule le *Trypanosoma equiperdum* (dont l'hôte de prédilection est le cheval) que l'on expérimente les Novarsénobenzols destinés à combattre le *Treponema pallidum* de l'homme; c'est par des essais sur le lapin qu'on juge de la toxicité d'un échantillon de caféine.

En 1923 MM. Régnier P. et Buchet C. au Congrès de l'association française pour l'avancement des sciences, demandèrent l'établissement d'un contrôle des médicaments organiques par des essais physiologiques. Actuellement ces essais sont obligatoires pour la digitale, l'ergotine, l'insuline, les vitamines et font l'objet d'une réglementation internationale. Les sérums également sont titrés par rapport à leur pouvoir de protection sur l'animal.

MM. Petit, Goldenberg et Panisset préconisent des essais physiologiques uniquement pour vérifier le pouvoir atoxique des vaccins livrés dans le commerce.

A la suite de ces divers rapports, les Pouvoirs Publics se sont inquiétés d'adapter la loi du 25 avril 1895 aux circonstances nouvelles.

Le 28 juin 1933 M. Barbéro, député, présente à la Chambre des députés, au nom de la Commission d'hygiène, un rapport sur un projet tendant à modifier l'ancienne législation et à la

rendre plus claire et plus précise. Voici un passage du rapport de M. Barbéro : « Les additions insérées dans l'article 1er l'ont été à la suite de l'avis émis par la Commission des sérums et vaccins, en raison des demandes de plus en plus nombreuses et de plus en plus diverses relatives à des produits pour lesquels la Commission est obligée à l'heure actuelle de donner un avis favorable, alors qu'elle sait pertinemment que tous ces produits sont sans utilité. » « Elle a donc demandé, sans pour cela donner une estampille officielle au produit en cause, à pouvoir contrôler son utilité par des méthodes biologiques ou cliniques ; c'est la raison de l'adjonction des termes « teneur en substances utiles ». D'autre part, pour pouvoir contrôler la permanence de la composition et de l'identité du produit vendu avec des échantillons ayant servi de base à l'autorisation, il était nécessaire que le demandeur « fournisse les moyens d'identification ».

Ce passage du rapport de M. Barbéro permet de comparer ce qui, dans l'esprit du législateur, est désirable et ce qu'en fait la loi réalise. Il a eu pour conséquence le vote par la Chambre des Députés et le Sénat, d'une nouvelle loi en date du 14 juin 1934 que nous reproduisons.

Loi sur les sérums thérapeutiques et divers produits d'origine organique.

Article premier. — Les virus atténués ou non, sérums thérapeutiques, toxines modifiées ou non et les divers produits d'origine microbienne pouvant servir, sous une forme quelconque, au diagnostic, à la prophylaxie ou à la thérapeutique, ne pourront être débités, à titre gratuit ou onéreux, qu'autant qu'ils auront été, au point de vue de leur origine, de leur provenance, de leur *appellation*, de leur fabrication, des moyens de leur *identification* et de *leur teneur en substances utiles*, l'objet d'une autorisation du Gouvernement rendue après avis de l'Académie de Médecine et du Conseil supérieur d'Hygiène publique de France.

Sont soumises à la même procédure les substances injectables d'origine organique, non définies chimiquement, utilisables à des fins thérapeutiques.

L'autorisation est temporaire, elle peut être révoquée dans les formes où elle a été accordée.

Les produits visés par la présente loi sont soumis à une inspection exercée par une commission nommée par le Ministre compétent. Les frais d'enquête pour autorisation incombent au demandeur, les frais de contrôle incombent à l'Etat.

Art. 2. — Le même que dans la loi du 25 avril 1895

Art. 3. — La livraison de ces produits, à quelque titre qu'elle soit faite, est assimilée à la vente et soumise aux dispositions de la loi du 1er août 1905 sur la répression des fraudes.

En conséquence, seront punis des peines portées à la loi du 1er août 1905 ceux qui auront trompé sur la nature desdites substances qu'ils sauront être falsifiées ou corrompues, et ceux qui auront trompé ou tenté de tromper sur la qualité des choses livrées.

Art. 4. — Toutes autres infractions aux dispositions de la présente loi seront punies d'une amende de 16 à 1.000 francs.

Art. 5. — Un règlement d'administration publique rendu après avis du Conseil supérieur d'hygiène publique de France précisera les conditions d'application de cette loi.

Art. 7. — La loi du 25 avril 1895 est et demeure abrogée.

Le ministère de l'Hygiène et de la Santé publique nous ayant fait savoir que les règlements d'administration publique prévus par la loi ne sont pas encore en vigueur, nous allons indiquer la procédure à suivre jusqu'à nouvel ordre : le fabricant qui désire vendre un nouveau vaccin ou tout autre produit d'origine microbienne en fait la demande à Académie de Médecine. La Commission des sérums délègue un inspecteur qui contrôle la bonne ordonnance des locaux, leur propreté, la provenance du produit, sa stérilité et la compétence du personnel employé. A la suite de ce rapport, et s'il est favorable, l'autorisation est accordée pour un an. Au bout de ce temps, l'intéressé demande à l'Académie, un renouvellement de la licence d'exploitation qui lui est accordé d'une façon illimitée, si aucun fait défavorable n'a été signalé.

La loi du 14 juin 1934 tient compte d'une partie des désiderata formulés par MM. Petit, Goldenberg, Panisset et Cazeneuve, mais la question du contrôle officiel, permanent et sans avis préalable, des vaccins, sérums et tout produit d'origine microbienne n'est pas encore suffisamment éclaircie; l'ancienne loi prévoyait déjà une inspection des laboratoires,

mais nous avons vu qu'en pratique cette inspection n'était pas permanente; la nouvelle législation n'ajoute rien de plus précis à ce sujet. Il serait bon qu'un règlement prévît la création d'un laboratoire officiel spécialement chargé du contrôle des produits en vente, au point de vue de leur stérilité, authenticité, innocuité et utilité.

Dans le but de rechercher si une semblable mesure serait utile, nous avons examiné la stérilité et l'authenticité de 155 spécialités vendues sous le nom de vaccins, bactériophages, antivirus et pommades à base d'antivirus.

CHAPITRE II

DES DIVERS MOYENS DE CONTROLE DE LA FABRICATION DES PRODUITS D'ORIGINE MICROBIENNE

Un contrôle bactériologique complet des vaccins, bactériophages, antivirus liquides ou incorporés à une pommade doit comprendre un examen :

de la stérilité ou pureté;

de l'authenticité;

de l'innocuité;

de l'efficacité.

Nous n'avons examiné que la stérilité ou pureté et l'authenticité des produits d'origine microbienne précités. Pour les bactériophages nous avons également fait l'essai d'efficacité *in vitro*.

Nous allons indiquer rapidement quelles ont été les directives suivies, nous réservant de décrire en détail le mode opératoire adopté pour chaque catégorie de produits.

1° **Examen de la stérilité ou pureté**. — Nous avons examiné la stérilité des vaccins, antivirus et bactériophages en aérobiose et en anaérobiose.

2° **Recherche de l'authenticité**. — a) *Des vaccins*. — Cette étude consiste à examiner microscopiquement la nature des germes contenus dans un vaccin et à en effectuer leur numération. Nous n'avons pratiqué que la première de ces recherches, mais il serait intéressant de faire la seconde, car bien des vaccins commerciaux n'ont pas une opacité suffisante pour justifier le titre d'émulsion indiqué.

b) *Des antivirus.* — Pour rechercher les caractères d'authen ticité des antivirus, nous ferons appel aux travaux de Besredka qui a particulièrement bien étudié les bouillons vaccinés, signalés pour la première fois par Pasteur.

Besredka, filtrant sur bougie Chamberland L3, un bouillon de culture abondonné à l'étuve à 37° pendant 8 jours, constate que le filtrat obtenu est impropre à la culture des germes homologues et exceptionnellement à celle des germes différents (colibacilles ou bac. dysentériques par exemple, dans un milieu vacciné contre le staphylocoque). Un deuxième ensemencement, suivi d'une deuxième filtration, est parfois nécessaire pour arriver à une vaccination totale du bouillon.

Suivant Besredka, les microbes élaborent une substance qui leur est antagoniste et qui n'est libérée par osmose qu'après la mort des germes. Cette substance, appelée antivirus, est douée vis-à-vis des cellules réceptives d'un pouvoir de saturation semblable à un phénomène de teinture, leur conférant une immunité locale. Or les microbes s'attaquent à un tissu de prédilection et se comportent envers les autres comme de simples saprophytes; si l'on vaccine localement le tissu sensible, on assure du même coup une immunité générale ; l'immunité acquise par ce moyen s'établit plus rapidement que dans la vaccination sous-cutanée. D'après Besredka, lorsqu'on introduit dans l'organisme un vaccin microbien, les germes sont détruits lentement avec mise en liberté de leur antivirus lesquels se portent par un chimiotactisme particulier sur le cellules sensibles; il est donc beaucoup plus simple et plus rapide de mettre en contact directement ces cellules et l'antivirus préparé *in vitro*.

Enfin Besredka signale une autre action locale de l'antivirus, à savoir qu'il empêche mieux qu'un antiseptique toujours corrosif pour les tissus, la pullulation des germes au niveau des plaies, mais le pouvoir empêchant *in vitro* n'est pas en rapport direct avec le pouvoir vaccinant, bien qu'il constitue néanmoins un caractère propre aux antivirus.

MM. Tzeklnowitzer, Goldenberg et Tzouverkalov ont essayé

de mettre en lumière la dissociation de ces deux propriétés des antivirus. Dans une première série d'expériences, ils montrent que les antivirus prennent naissance aux dépens des protides du bouillon : une culture en milieu synthétique est inapte à la production d'antivirus. Dans une deuxième série d'expériences, ils préparent deux sortes de filtrats : les uns à l'aide de milieux synthétiques (milieu de Sauton modifié), les autres, à l'aide de milieux albumineux naturels. Ils constatent que les premiers ont un pouvoir empêchant *in vitro*, mais sont dépouillés de toute action vaccinante *in vivo*, alors que les seconds possèdent à la fois les deux qualités.

Bien des controverses ont eu lieu au sujet de la théorie de l'immunité locale, mais le pouvoir empêchant *in vitro* des antivirus ayant été constaté par tous les bactériologistes qu ont préparé ces produits en suivant la méthode de Besredka, qu'ils soient partisans (Mme Gouzartchik-Glarner, Mlle Aïtof, MM. Laval et Chaillot) ou non (Rénaux, Gratia, Aldershoff) de la théorie de Besredka, nous avons cru pouvoir prendre ce caractère biologique comme moyen d'identification des produits commerciaux. L'impossibilité de faire un accord entre nos résultats, ceux que donne l'expérimentation physiologique, et les explications fournies par les divers auteurs sur l'origine et le mode d'action des antivirus, nous incline à penser que le moyen d'identification choisi n'a pas de valeur absolue, il est sous la dépendance de facteurs encore inconnus ; peut-être variables suivant le mode de préparation et les souches employées, et n'a pas de rapport direct avec le pouvoir vaccinant de ces produits.

c) *Des bactériophages.* — Les bactériophages présentent un caractère d'identité facile à mettre en évidence, c'est leur action lysante envers les germes microbiens correspondants, moyennant certaines précautions signalées par d'Hérelle, lequel a très minutieusement décrit toutes les modalités du phénomène.

3° **Recherche de l'innocuité.** — a) *Des vaccins.*- L'introduction dans l'organisme d'une émulstion microbienne parfaitement stérile n'est pas dépourvue de danger; elle s'accompagne le plus souvent de réactions protéotoxiques variables allant du simple malaise jusqu'au choc anaphylactique. Le rapport existant entre l'action immunisante des vaccins et le choc qu'ils provoquent est mal connu : certains nullement protéotoxiques sont très immunisants, d'autres très choquants sont quelquefois dépourvus de tout pouvoir antigénique spécifique. Les effets curatifs observés dans ce dernier cas ont conduit à une nouvelle méthode thérapeutique, la protéinothérapie qui utilise la réaction phylactique ou le choc colloïdoclasique pour réveiller les défenses de l'organisme Par contre, la vaccination proprement dite cherche à créer une immunité spécifique lente et progressive avec le moins d'à-coups possible.

Au cours de la préparation des vaccins il se produit une désintégration des germes plus ou moins complète suivant la température et le temps de chauffe; de tels vaccins ne sont pas seulement une émulsion de microbes, mais également une suspension colloïdale de protides et de toxines.

Simonin prépare des vaccins selon les méthodes habituelles, c'est-à-dire, une émulsion à un titre déterminé, en eau salée à 9 pour 1000, de germes microbiens tués par un chauffage à 56° pendant 1 heure et lavés aseptiquement de façon à les débarrasser des protides provenant du milieu de culture.

Puis il laisse vieillir ces vaccins dans de bonnes conditions d'obscurité et de fraîcheur. Au bout de quelques semaines, il constate après numération des germes, un abaissement du taux de l'émulsion; l'action des sérums précipitants montre un enrichissement progressif du liquide vecteur en produits albumineux d'origine microbienne; enfin l'essai sur l'animal révèle un pouvoir toxique d'autant plus élevé, que le vaccin est plus vieux : alors qu'un vaccin frais ne provoque aucun choc protéotoxique sur le lapin, le même au bout de quelques mois amène une chute de la pression carotidienne, signe de la protéotoxie chez cet animal.

Les expériences de Stassano sont aussi concluantes. Cet auteur, étudiant le meilleur mode de stérilisation pour les vaccins, imagine un dispositif assurant la parfaite stérilité en quelques fractions de seconde à une température de 60° : il est composé de deux parois métalliques chauffées à 60°, séparées par un très petit espace (quelques microns). Avec la pasteurellose du barbone du buffle, il prépare 2 séries de vaccin : une série A, stérilisée par chauffage à 60° au bain-marie pendant 1 heure; une série B, stérilisée par le procédé des parois.

108 jeunes buffles sont vaccinés avec le vaccin B; pas une bête ne montre la moindre réaction.

Avec le vaccin A injecté à 52 buffles, il observe de légers troubles (inquiétude, halètement), d'ailleurs fugaces; cependant, il constate le lendemain, qu'une bête est morte; l'autopsie ne révèle aucune septicémie. Stassano, reprend les vaccins A et B, les centrifuge pour séparer les liquides vecteurs; le liquide du vaccin A est injecté à un lapin qui meurt 24 heures après; le liquide du vaccin B, ne provoque aucun trouble après injection à un autre animal. Stassano conclut que la mort du buffle est consécutive à l'injection d'un vaccin toxique.

Goldenberg et Panisset insistent également sur le danger d'employer des vaccins qui ont été soumis à un chauffage intensif ou trop prolongé; d'après eux, l'emploi de sérum physiologique est également défectueux; ils préconisent la formule établie par l'un d'eux; à savoir : parties égales de germes tués par la chaleur et de germes tués par le formol, en émulsion dans les produits de lyse sodique des mêmes germes; d'une part le formol fixerait le protoplasma microbien et d'autre part, transformerait les toxines en anatoxines.

De tels vaccins injectés à dose massive à des lapins ou à des cobayes ne provoqueraient aucune réaction ni phénomène d'anaphylaxie quelle que soit la voie d'introduction.

Ces auteurs demandent dans leur rapport à l'Académie de Médecine sur *La nécessité d'un contrôle des vaccins*, un essai

du pouvoir atoxique sur l'animal des vaccins livrés dans le commerce; un tel contrôle est facile à réaliser et permettrait de vérifier si tous les produits sont réellement utilisables jusqu'à la date limite d'utilisation indiquée.

b) *Des antivirus.* — La composition chimique des antivirus est loin d'être définie, mais on s'accorde à les croire formés en partie par les exotoxines et les endotoxines libérées après la mort des germes; un essai physiologique sur l'animal pour déterminer la toxicité de tels produits est donc indispensable surtout pour les antivirus injectables dont l'introduction dans l'organisme peut amener des phénomènes d'intoxication et d'anaphylaxie parfois mortels.

c) *Des bactériophages.* — Le même contrôle s'impose pour les bactériophages dont l'emploi en injection intraveineuse est très délicat, car les filtrats bactériophagiques contiennent non seulement des corpuscules bactériophages, mais encore tous les produits de lyse des germes qui ont servi de milieu nutritif pour la culture du bactériophage.

4° **Recherche de l'efficacité.** — a) *Des vaccins.* — Nous avons vu, dans le chapitre premier, la réserve faite par MM. Petit, Goldenberg et Panisset, au sujet d'un essai d'efficacité des vaccins sur les animaux; jusqu'à présent seul un faisceau d'observations cliniques guide le thérapeute.

Les vaccins curatifs ne se prêtent pas, il est vrai, à une expérimentation sur l'animal; mais il en est autrement des vaccins préventifs : les premiers travaux relatifs à la création de l'immunité par introduction dans l'organisme, de germes atténués, ont été faits sur l'animal; ce n'est qu'après avoir vérifié ainsi les effets immunisants et l'absence de danger de cette méthode que les biologistes l'ont appliquée à l'homme.

Nous reconnaissons toute la difficulté d'un pareil contrôle; on devra choisir les animaux les plus réceptifs pour chaque germe contre lequel on veut vacciner l'organisme; encore faut-il faire cette réserve qu'il est toujours aléatoire de déduire les réactions de l'homme d'après celles de l'animal.

La technique est donc à préciser pour chaque cas, et si dans certains d'entre eux, elle apparaît difficile à établir, il ne semble pas impossible qu'elle puisse être mise au point pour quelques vaccins.

b) *Des antivirus.* — La même remarque s'adresse aux antivirus : Besredka s'est servi du cobaye pour établir le pouvoir vaccinant de son antivirus staphylococcique, et du lapin pour montrer l'efficacité de la vaccination typhoïdique *per os*.

c) *Des bactériophages.* — Comme nous le verrons au chapitre V, l'essai d'authenticité des bactériophages est en même temps, un essai de leur efficacité : la virulence constatée *in vitro* d'un bactériophage envers le germe correspondant traduit son degré de virulence *in vivo*. Cela tient, sans doute, à ce que, pour le bactériophage, la matière vivante est la bactérie et non pas l'organisme humain. Tout semble se passer dans une expérience de bactériophagie *in vitro*, comme si l'on expérimentait *in vivo*.

CHAPITRE III

ETUDE DES VACCINS

Avant d'entreprendre l'étude de la technique suivie, nous allons rapidement examiner les différentes sortes de vaccins utilisés et leurs divers modes de préparation.

« Vacciner, c'est introduire dans l'organisme, d'une façon noffensive, des microbes, des produits microbiens ou des toxines qui y déterminent la formation d'anticorps et lui confèrent l'immunité » (Besson).

On utilise pour vacciner, soit des corps microbiens, soit leurs toxines solubles. Certains germes attaquent l'organisme au moyen de leurs exotoxines extrêmement actives et qui agissent à dose infime comme le feraient des diastases; elles diffusent rapidement alors que le germe reste localisé au point d'inoculation. Il suffit de vacciner avec ces toxines pour immuniser l'organisme. Tel est le principe des vaccins antidiphtériques et antitétaniques.

La plupart des microbes agissent au contraire en se multipliant dans tous les tissus et organes; dans ce cas on vaccine avec le germe.

La première tentative de vaccination remonte très loin : la variolisation aurait été en effet imaginée par les médecins chinois, il y a 3.000 ans; elle consistait à inoculer sous la peau le contenu d'une pustule fraîche provenant d'un varioleux. La maladie restait localisée au point d'inoculation et rendait l'organisme réfractaire à une atteinte ultérieure; dans certains cas,pourtant, elle se généralisait ce qui rendait cette pratique aléatoire et fort dangereuse.

Depuis la découverte de Jenner en 1791, on utilise un virus varioleux cultivé sur le cheval ou la vache (de *vacca*, est venu le mot de vaccination) adapté à l'organisme de ces animaux et atténué vis-à-vis de l'homme : c'est le type de la vaccination par virus atténué au moyen de passage sur un animal différent ou sur milieux spéciaux, également appliqué au rouget du porc et à la tuberculose.

L'emploi de virus normaux, dont le type est la variolisation, est limité à l'usage vétérinaire dans le but d'obtenir des sérums spécifiques et à la vaccination jennerienne.

La méthode de vaccination le plus couramment employée consiste à utiliser des germes tués; c'est ce type de vaccins à base de corps microbiens tués que nous avons étudié. Les procédés utilisés pour enlever aux microbes leur virulence tout en leur conservant leurs propriétés antigéniques sont très variés; on peut en distinguer deux groupes : ceux qui utilisent les agents physiques et ceux qui utilisent les agents chimiques.

Stérilisation par agents physiques.

Le froid. — Certains vaccins à base de germes très sensibles au froid (gonocoque, méningocoque, pneumocoque), bénéficient de cette méthode. Quelques heures d'exposition à 20°, suffisent à tuer le méningocoque; le gonocoque, plus résistant est cependant complètement stérilisé après un séjour de 24 heures à 0°. Pour les autres germes, on a proposé des variantes de cette méthode : passages brusques d'une température de — 18° à + 16°; mais elles sont compliquées et peu utilisées.

Les rayons ultra-violets.

La lumière stérilise les germes au bout d'un temps variable suivant les espèces. Les rayons ultra-violets émis par une lampe à vapeurs de mercure agissent plus rapidement et sûrement; cette méthode a l'avantage de ne pas altérer le protoplasma microbien, mais elle est peu généralisée.

La chaleur.

C'est la méthode la plus courante, elle donne de bons résultats à condition d'être bien conduite.

Ainsi que nous l'avons vu au chapitre II, il faut éviter, pour les vaccins préventifs, de chauffer les émulsions à de trop hautes températures et pendant un temps trop long. Pour chaque germe, il faut au préalable déterminer la température et le temps strictement nécessaires pour assurer la stérilisation. Il faut aussi éviter de chauffer à la fois une grande masse d'émulsion, l'homogénéité de température, étant dans ce cas difficile à réaliser.

Ces conditions remplies, la stérilisation par la chaleur ne modifie pas la morphologie des germes ainsi que nous avons pu le constater sur les frottis de culot de centrifugation, et donne des vaccins de bonne conservation.

Stérilisation par agents chimiques.

Ce procédé est simple, rapide et sûr si l'antiseptique employé remplit certaines conditions : il doit imprégner lentement le protoplasme microbien de façon à éviter l'éclatement brusque du germe et on doit pouvoir l'éliminer facilement une fois son rôle rempli ; tels sont l'iode, le brome, le fluorure de sodium, le formol. Au contraire les vaccins stérilisés par la soude, selon la technique de Mauté sont en réalité des autolysats qui peuvent agir au point de vue curatif, mais ont perdu leurs propriétés antigéniques.

Les diverses méthodes de stérilisation rapidement examinées, nous allons étudier succinctement la préparation des émulsions microbiennes.

Liquide vecteur. — Le liquide vecteur doit être inoffensif pour les tissus, indolore et ne pas exercer d'action lysante sur les germes. Le plus couramment employé est la solution salée à 9‰, pure ou additionnée d'antiseptique (phénol, lysol, fluorure de sodium).

L'action antigénique d'un vaccin étant fonction de la len-

teur avec laquelle les germes se désagrègent dans l'organisme un fabricant utilise, pour retarder la résorption du vaccin, un excipient huileux dont il ne précise pas la nature.

Souches microbiennes. — Les cultures utilisées doivent être pures et fraîches. Pour les stocks-vaccins, on utilisera des souches séparées et on mélangera les différentes émulsions au dernier moment. L'émulsion doit être homogène et filtrée sur papier pour séparer les débris de gélose introduits avec l'anse de platine.

On titre l'émulsion par divers procédés (méthode de Whright, méthodes opacimétriques, méthode des pesées...).

Puis l'émulsion est stérilisée par un des procédés indiqués plus haut. La mise en ampoules est faite aseptiquement. A ce sujet, il faut noter que le choix du verre des ampoules est important, car sous l'influence de la chaleur certains verres cèdent au milieu un peu de leur alcalinité, ce qui peut nuire à la conservation des vaccins.

Avant de les livrer dans le commerce il faut vérifier par des ensemencements la stérilité de ces produits, en prélevant au hasard quelques ampoules d'un même lot.

Nous avons pratiqué cet examen sur 100 vaccins différents fabriqués par 22 laboratoires, et sur le culot de centrifugation des ampoules nous avons vérifié, par la coloration de Gram, si les germes contenus correspondent à ceux indiqués sur l'étiquette. A ce sujet nous devons faire remarquer que ce moyen de contrôler la nature des germes est imparfait mais est le seul possible; en effet un bacille à Gram négatif peut être aussi bien du bacille pyocyanique que du colibacille ou du bacille d'Eberth, car après les diverses manipulations subies par le germe il ne faut pas espérer retrouver quelques particularités de morphologie (formes en navettes, en massue...). Ce contrôle a néanmoins l'avantage de donner une idée approximative du soin avec lequel ont été conduites les opérations, il nous arrivera, par exemple, de trouver du *bacillus subtilis* dans un vaccin à base de staphylocoques ou de constater des mélanges de cultures dans un vaccin monomicrobien.

Nous allons maintenant décrire le mode opératoire suivi.

I. Examen de la stérilité des vaccins.

Milieux utilisés. — Nous employons comme milieux de culture la gélose inclinée à 25 ‰ et le bouillon de foie de veau pour l'essai en aérobiose, la gélose profonde de Veillon et le bouillon anaérobie glucosé avec fragment d'albumine pour l'essai en anaérobiose.

Technique. — Par une agitation énergique ou homogénéise l'émulsion. D'un trait de lime flambée on fait sauter l'extrémité de l'ampoule passée à la flamme. On flambe à nouveau l'ouverture et à l'aide d'une pipette Pasteur stérilisée ont prélève 1 centimètre cube du liquide à étudier que l'on verse aseptiquement dans 10 à 15 centimètres cubes de bouillon stérile.

Si l'émulsion microbienne contenue dans l'ampoule est très épaisse et trouble le milieu de culture on fait un repiquage au bout de 24 heures pour vérifier si ce trouble est dû ou non à une culture de germes, car il est bien entendu qu'un vaccin à base de bactéries tuées du type de ceux que nous avons examinés ne doit donner aucune culture de quelque nature qu'elle soit.

Sur gélose inclinée quelques gouttes de liquide suffisent.

L'essai en anaérobiose est ordinairement pratiqué avec la gélose Veillon, mais comme moyen de contrôle nous employons le bouillon anaérobie glucosé, soit lorsque le vaccin examiné est à base de germes anaérobies, soit lorsqu'un essai sur la gélose Veillon nous a donné un résultat positif. On fait fondre la gélose en plongeant le tube à ensemencement dans un bain-marie bouillant pendant 30 minutes; on refroidit sous un courant d'eau jusqu'à ce que la gélose soit en surfusion à une température compatible avec la vie des germes, pratiquement il suffit que le contact du tube sur le dos de la main ne donne pas une sensation de chaleur. On ensemence à la pipette

Pasteur en évitant d'introduire de l'air, c'est-à-dire, en faisant affleurer le contenu à l'extrémité de la pipette et en portant celle-ci au fond du tube.

Sitôt l'ensemencement fait, on refroidit le tube jusqu'à solidification complète, tout en lui imprimant des mouvements de centrifugation pour maintenir au fond du tube, bien à l'abri de l'air, le liquide ensemencé.

Le bouillon anaérobie glucosé également employé pour l'examen en anaérobiose doit d'abord être régénéré par un passage au bain-marie bouillant pendant 30 minutes, suivi d'un refroidissement brusque par un courant d'eau froide; cette opération purge partiellement d'air le bouillon qui doit servir de milieu de culture aux germes anaérobies. On ensemence à l'aide d'une pipette Pasteur sans introduire d'air 1 centimètre cube du vaccin à examiner.

Avec un chalumeau on étrangle le tube au tiers supérieur, puis on le met en communication avec la machine à vide. On fait le vide graduellement en surveillant attentivement l'opération, pour éviter les soubresauts du liquide qui se souillerait en touchant le bouchon de coton. Avec un bec Bunsen on chauffe légèrement la partie supérieure du tube pour faire retomber les bulles d'air qui tendent à monter; on donne de petits chocs répétés sur le fond du tube pour aider l'air adhérent aux parois à se dégager. La grosseur des bulles renseigne sur la marche de l'opération : grosses au début, elles deviennent très fines, ne se dégageant que lorsqu'on choque les parois du tube, puis elles redeviennent grosses au moment où le liquide se met à bouillir. C'est le signe d'un vide suffisant. A l'aide du chalumeau on scelle alors le tube, sous le vide, au niveau de son étranglement. L'ensemble de ces manipulations demande environ un quart d'heure avec des milieux bien régénérés. Tous les tubes ensemencés sont portés à l'étuve à 37° pendant 3 jours.

Lorsqu'on obtient une culture soit en aérobiose, soit en anaérobiose, on recommence l'essai avec au moins deux

autres ampoules du même échantillon. Malgré les précautions d'asepsie prises, on ne considère comme souillés que les vaccins donnant trois résultats positifs.

Nous allons récapituler dans un tableau synoptique les résultats obtenus en désignant par une lettre majuscule le nom du laboratoire et par un chiffre le nom du vaccin.

Nom du laboratoire	Nom du vaccin	Voie d'introduction	Date limite d'utilisation	Composition	Essai de stérilité	Examen du culot de centrifugation
A	n 1	Buccale	Non indiquée	Staphylocoques	Stérile	Cocci Gram +
—	n° 2	»	»	Colibacilles	»	Bâton. Gram —
				Entérocoques		Cocci Gram +
—	n° 3	»	»	Pneumocoques	»	Cocci Gram +
				Entérocoques		Bâton. Gram +
				Staphylocoques		et spores
—	n 4	»		Bac. d'Eberth	»	Bâton. Gram —
				Paratyphiques A et B		Cocci Gram +
						Bâton. Gram + et spores
B	n° 5	Injectable	Illimitée	Streptocoques	»	Chaînettes de cocci Gram +
—	n° 6	»	»	Pneumocoques	»	Cocci Gram + isolés, en tétrades, chaînettes, diplocoques
				Entérocoques		
				Streptocoques		
				Staphylocoques		
				Pneumobacilles de Friedlander		Bâton. Gram —
				Bac. de Pfeiffer		
—	n° 7	»	»	Staphylocoques	»	Cocci Gram +
—	n° 8	»	»	Gonocoques	»	Cocci Gram +
				Staphylocoques		Bâton. Gram —
				Ps.-diphtériques		
				Pneumobacille de Friedlander		
				Micrococques		
				Entérocoques		
C	n° 9	Injectable	Non indiquée	Bac. de Bordet et Gengou	»	Cocci Gram +
				Pneumocoques		Bâton. Gram —
				B. de Friedlander		
				Micrococcus Catarrhalis		
				Streptocoques		
	n° 10	»	»	Staphylocoques	»	Cocci Gram +
C	n° 11	Injectable	Non indiquée	Colibacilles	Stérile	fBâton.Gram —
—	n° 12	»	»	Paratyphiques A	»	*id.*
—	n° 13	»	»	Paratyphiques B	»	*id.*
-	n° 14	»	»	Bac. d'Eberth	»	*id.*
	n° 15	»	»	Formule de Delbet	Non stérile	Cocci Gram +
						Bâton. Gram - Spores
	n° 16	»	»	Staphylocoques dans un filtrat de culture + anatoxine Colibacilles chauffés à 120°	Stérile	Cocci Gram +
–	n° 17	Injectable	Non indiquée		Stérile	Bâton. Gram - partiellement autolysés
	n° 18 2 échantil.	»	»	Colibacilles	»	Bâton. Gram -
				Entérocoques		et cocci Gram +

Nom du laboratoire	Nom du vaccin	Voie d'introduction	Date limite d'utilisation	Composition	Essai de stérilité	Examen du culot de centrifugation
—	n° 19	»	»	Gonocoques	»	Pas de cocci Gram — mais bâton. Gram + et spores
	n° 20	»	»	Gonocoques Streptocoques Entérocoques Staphylocoques	»	Cocci Gram + et très rares cocci Gram —
—	n° 21	»	»	Coccobac. de Bordet et Gengou Bac. de Pfeiffer Streptocoques Entérocoques Staphylocoques Micrococcus Catarrhalis (chauffés à 120°)	»	Les germes se colorent mal; ils sont partiellement autolysés On distingue une partie des germes indiqués
D	n° 22	Injectable	»	Pneumocoques Entérocoques Streptocoques	»	Bâton. Gram — Rares cocci Gram +
E	n° 23	»	»	Streptocoques Pneumocoques Bac. de Pfeiffer Microc. catarrhalis + fluorure de sodium et phénol	Stérile	Cocci Gram + Bâton. Gram —
F	n 24	»	»	Staphylocoques	Stérile	Cocci Gram +
		»		bacilles de Bordet et Gengou	»	bacilles gram — en navettes
—	n° 26	»	»	gonocoques	»	germes mal colorés et en partie autolysés.
—	n° 27	»	»	bacilles de Ducrey	»	Bacilles Gram— en navette
G	n° 28	Buccale	»	Colibacilles Entérocoques Staphylocoques	»	Cocci Gram + très rares bâtonnets Gram— et bât. Gram +
H	n° 29	Injectable	»	Gonocoques chauffés à 56°	»	Germes très déformés non reconnaissables
I	n° 30	»	Janv. 1933	Staphylocoques dans un lysat-sodique de ces germes	»	Cocci Gram +
I	n° 31	»	Janv. 1933	strepto-entéro staphylo-pneumocoques, tétragènes-microc. catarrhalis, pneumobac. de Friedländer, colibacilles	»	Cocci Gram + en chaînette et en tétrades bât. Gram —

Nom du laboratoir	Nom du vaccin	Voie d'introduction	Date d'utilisation	Composition	Essai de stérilité	Examen du culot de Ccentrifugatio
I	n° 32	Injectable	Déc. 1933	Gonocoques staphylo-strepto-entérocoques colibacilles, diphtérimorphes.	Stérile	cocci Gram + bâton. Gram — et Gram +
—	n° 33	»	Juin 1934	mêmes germes que le n° 32	»	Mêmes germes que le n° 32
—	n° 34	»	Janv. 1933	Staphylo-strepto-entérocoq. colibacilles-tétragènes, bac. pyocyanique B. de Friedländer	»	Cocc Gram + bât.i Gram —
—	n° 35	»	Févr. 1933	B. de Pfeiffer. B. de Friedländer, staphylo-pneumocoques. Protéus colibacilles, mic. Catarrhalis	»	bât. Gram — Cocci Gram +
—	n° 36	»	Juillet 1934	mêmes germes que que le n° 33	»	bât. Gram —
—	n° 37	»	1938	strepto-staphylo-entérocoques colibacilles, tétragènes, pneumobacille de Friedländer, pseudo-diphtériques, microc. catarrhalis	»	Cocci Gram + bât. Gram + et Gram —
—	n° 38	»	1936	Staphylo-colibacilles-entérocoques-strepto-gonocoques-pseudo-diphtériques	»	Cocci Gram + Bât. Gram +
—	n° 39	Buccale	1936	Staphylocoques	»	Cocci Gram +
J	n° 40	Injectable	non indiquée	Staphylocoques	»	Cocci Gram + Bât. Gram —
—	n° 41	»	»	Colibac. protéus-pneumocoques-staphylo.	»	Cocci Gram + et bât. Gram — en nombre plus restreint
J	n° 42	Injectable	non indiquée	Pneumocoques Strepto-microc. Catarrhalis Entérocoques Staphylocoques	stérile	Cocci Gram +
J	n° 43	»	»	Colibacilles Entérocoques fProteus-staphylocoques	»	Cocci Gram + et bât. Gram —
K	n° 44	»	Mars 1936	Bacilles d'Eberth	»	Bât. Gram —
—	n° 45	»	Mars 1936	Bacilles d'Eberth Paratyphiques A et B	»	Bât. Gram —
—	n° 46	»	Août 1937	Staphylocoques	»	Cocci Gram +

Nom du laboratoire	Nom du vaccin	Voie d'introduction	Date d'utilisation	Composition	Essai de stérilité	Examen du culot de centrifugation
-	n° 47		Août 1937	Gonocoques	»	Diplocoques Gram —
-	n° 48		Août 1937	Bacilles de Bordet et Gengou	»	Bât. Gram —
-	n° 49	»	Mars 1938	Streptocoques	-	Cocci Gram + en chaînettes
-	n° 50		Sept. 1937	Gonocoques	»	Cocci Gram — en diplocoques
-	n° 51	»	Mars 1938	Formule de Delbet		Bât Gram et cocci Gram +
-	n° 52	»	Mars 1938	Staphylocoques Streptocoques Colibacilles Anaérobies	-	Cocci et bât. Gram + et bât. Gram -
- -	n° 53	»	Mars 1938	Pneumocoques Streptocoques Staphylocoques Entérocoques Micrococcus Catarrhalis		Cocci Gram +
	n° 54		Mars 1936	Colibacilles		Bât. Gram —
K	n° 55	Injectable	1935	Entérocoques Colibacilles	Stérile	Bât. Gram Cocci Gram +
-	n° 56		1938	Staphylocoques Streptocoques Bac. pyocyanique Colibacilles Diplocoques de Neisser		Cocci Gram + et Gram Bât. Gram —
	n° 57	»	1936	Méningocoques	-	Diplocoques en grain de café Gram —
	n° 58	-	1938	Micrococcus Melitensis		Cocci Gram
	n° 59		1937	Vibrions cholériques	-	Bacilles virgules Gram —
	n° 60	-	1936	Bac. de Yersin		Coccobacilles en navettes, bâtonnets et formes d'involution Gram -
B	n° 61		Non indiquée	Entérocoques et Bac. d'Achalme		Cocci Gram + Bât. Gram + et spores
M	n° 62		Juin 1933	Staphylocoques spécialement isolés de furoncles	-	Cocci Gram +
	n° 63		Déc. 1933	Staphylocoques isolés de foyers d'ostéomyélite		Cocci Gram +

Nom du laboratoire	Nom du vaccin	Voie d'introduction	Date limite d'utilisation	Composition	Essai de stérilité	Examen du culot de centrifugation
—	n° 64	»	Sept. 1933	Gonocoques	»	Diplocoques en grains de café bien colorés Gram —
N	n° 65	»	Non indiquée	Colibacilles	»	Bât. Gram -
—	n° 66	»	»	Corynebacterium cuti Diplocoques de Neisser Entérocoques Streptocoques	»	Cocci Gram + et bât. Gram —
N	n° 67	Injectable	Non indiquée	Pneumocoques Streptocoques Entérocoques B. de Friedländer Micrococcique catarrhalis	Stérile	Cocci Gram + et bâtonnets Gram —
—	n° 68 2 échantil. examinés	»	»	Staphylocoques	»	Cocci Gram +
—	n° 69	»	»	Bac. de Pfeiffer Streptocoques Pneumocoques Pneumobacilles Microc. aureus	»	Peu de cocci Gram — Bâton. Gram +
—	n° 70	»	»	Gonocoques	»	Rares cocci Gram —
—	n° 71	»	»	Bacilles de Bordet et Gengou	»	Bâton. Gram —
—	n° 72	»	»	Sysphilus	»	Cocci Gram +
—	n° 73	»	»	Pneumobacilles Bac. de Pfeiffer Streptocoques Pneumocoques Microc. aureus	»	Cocci Gram + et bâton. Gram —
—	n° 74	»	»	Bac. dysentériques	»	Bâton. Gram —
—	n° 75	»	»	Colibacilles	»	Bâton. Gram -
—	n° 76	»	»	Bac. d'Eberth	»	*id.*
—	n° 77	»	»	Paratyphiques A	»	*id.*
—	n° 78	»	»	Paratyphiques B	»	*id.*
O	n° 79	»	1935	Gonocoques	»	Examen impossible à cause de l'excipient huileux
—	n° 80	»	1935	Bac. d'Eberth Paratyphiques A et B		idem
F	n° 81	Injectable	1935	Gonocoques Bac. d'Hoffmann Staphylocoques Colibacilles Proteus bac. cutis commune Bac. pyocyaniques	Stérile	Cocci Gram + bâton. Gram — et Gram +

Nom du laboratoire	Nom du vaccin	Voie d'introduction	Date limite d'utilisation	Composition	Essai de stérilité	Examen du culot de centrifugation
—	n° 82	»	1935	Bac. pyocyanique proteus vulgaris Bac. perfringens Staphylocoques Streptocoques Entérocoques Colibacilles	»	Bâton. Gram — Cocci Gram + Très rares bâton. Gram —
—	n° 83	»	Août 1935	Streptocoques Staphylocoques Tétragènes B. cutis commune Bac. pyocyaniques	»	Cocci Gram + Bâton. Gram —
Q	n° 84 4 échantil examinés	»	Juin 1933	Staphylocoques Entérocoques Pneumocoques Tétragènes	»	Cocci Gram +
R	n° 85	»	Non indiquée	Streptocoques Staphylocoques Pneumocoques Bac. pyocyaniques Colibacilles	»	Aucun coccus n'est visible; quelques débris de bac. pyocyaniques sont seulement colorables
—	n° 86	»	»	Gonocoques	»	Aucune forme microbienne n'est visible
S	n° 87 4 échantil examinés.	»	»	Pneumocoques Microc. catarrhalis Staphylocoques Tétragènes Bac. pyocyaniques	»	Cocci Gram + et Bâton. Gram —
—	n° 88	»		Pneumocoques Streptocoques Staphylocoques Entérocoques Bac. pyocyaniques		Cocci Gram + et bâton. Gram —
—	n° 89	»	»	*id.*		*id.*
T	n° 90	Injectable	Non indiquée	Staphylocoques	Stérile	Cocci Gram +
—	n° 91	Pour pansement		Staphylocoques		Germes mal colorés en partie autolysés
U	n° 92 2 échantil examinés.	Buccale en lavement ou lavage		Entérocoques proteus Staphylocoques Colibacilles	Non stérile	Bâton. Gram — Bâton. Gram + Spores
-	n° 93 3 échantil examinés	Buccale en lavement ou lavage		Staphylocoques	Non stérile	Cocci Gram + Bâton. Gram + Spores

Nom du laboratoire	Nom du vaccin	Voie d'introduction	Date limite d'utilisation	Composition	Essai de stérilité	Examen du culot de centrifugation
—	n° 94	Buccale en lavement ou lavage	»	Diplocoques de Neisser Synocoques Staphylocoques Entérocoques Colibacilles Ps-diphtériques	Non stérile	Cocci Gram + Bâton. Gram — et Gram +
V	n° 95	Injectable	»	Pus aseptique	Stérile	Aucun germe visible; leucocytes déformés
W	n° 96	Pansement	»	Formule de Delbet	»»	Cocci Gram + bien colorés; mais bâton. Gram — en partie lysés
X	n° 97	Injectable	»	Staphylocoques	»	Très rares cocci Gram +
—	n° 98	Buvable	»	Staphylocoques	»	Très rares cocci Gram +
—	n° 99	Injectable	»	Colibacilles	»	Ouel. très rares bâton. Gram — à peine visibles sur le culot de centrifugation de 1 cc. devant contenir 1 milliard de germes par cc.
—	n° 100	Buvable	»	Colibacilles	»	Même résultat que le précédent

En résumé, nous avons trouvé 7 vaccins non stériles :

Le vaccin C n° 15;
2 vaccins U n° 92;
3 vaccins U n° 93;
1 vaccin U n° 94.

Les 2 vaccins U n° 92 et les 3 vaccins U n° 93 proviennent de lots différents ce qui fait présumer que leur préparation est continuellement défectueuse; nous avons ensemencé les contenus de 30 ampoules environ de ces 5 produits, nous avons eu chaque fois une culture, différente d'ailleurs suivant la date de l'envoi. Nous devons faire remarquer que le prospectus mentionne « ne pas injecter » vraisemblablement en raison du grand nombre de germes en émulsion et du choc que cela

pourrait produire. Le vaccin C n° 15 paraît avoir été accidentellement souillé car les autres vaccins du même laboratoire sont parfaitement stériles, 6 ampoules ont été ensemencées, nous avons eu chaque fois la même culture.

Ainsi que nous l'avons fait remarquer dans le chapitre II il est difficile d'identifier exactement les germes isolés des vaccins, car leurs propriétés biologiques sont modifiées par le séjour en ampoule et les traitements qu'on leur a fait subir; pratiquement le nom de ces germes a peu d'intérêt, tout vaccin souillé devant être rejeté quels que soient la nature et le degré de virulence des bactéries présentes; nous allons cependant indiquer les résultats obtenus dans nos essais d'indentification.

Cas du vaccin C 15

Staphylocoques, Streptocoques, B. pyocyaniques.

I. *Caractères microscopiques du germe isolé.*

Bâtonnet grêle, sporulé, Gram + très facilement décolorable mobile.

II. *Caractères culturaux.*

Anaérobie facultatif. Culture abondante mais lente à pousser.
Gélose inclinée : Culture au bout de 48 heures, peu visible, adhérente.
Gélose au sous-acétate de plomb : Pas de noircissement.
Pommes de terre : Pas de culture apparente. Pigment brun au bout de 3 ou 4 jours.
Bouillon glucosé : Culture très abondante avec ondes moirées, légère collerette sur les bords.
Eau peptonée : Culture en 12 heures, ondes moirées, pas d'indol réaction à la vanilline).
Lait : Coagulation en bouillie très lente avec séparation des éléments en 3 couches.
Lait tournesolé : Pas de virage.
Sérum coagulé : Culture abondante : crème humide non adhérente, pigment légèrement brunâtre, protéolyse le 6e jour.
Bile : Pas de culture.
Rouge neutre : Pas de fluorescence.
Gélatine : Elle n'est pas liquéfiée.
Action sur les sucres : Au lieu d'employer des géloses sucrées tournesolées, nous employons des bouillons sucrés de pH connu et

après action du germe, nous cherchons le pH final à l'aide du Colorant Universel.

Mannitol : Culture abondante de pH final 7,5 (le ph initial est égal à 7,6).

Glucose : Culture abondante de pH final 7.

Maltose : — 7,5.

Lactose — 7,5.

Saccharose — 7.

III. *Pouvoir pathogène sur l'animal* :

2 cc 1/2 d'émulsion en sérum physiologique sont injectés sous la peau d'un jeune cobaye : aucune réaction locale, aucune élévation de température.

Conclusions : Les propriétés biologiques du germe ont été profondément modifiées par les traîtements subis et ne permettent plus de l'identifier.

Cas des vaccins U n° 92

(entérocoques, proteus, staphylocoques, colibacilles

Deux échantillons différents ont été examinés.

Echantillon a

I. *Caractères microscopiques du germe isolé* :

Gros bâtonnet, épais, non capsulé, sporulé (spores centrales) Peu mobile. Gram +.

II. Caractères culturaux.

Culture abondante. Anaérobie facultatif. Pousse rapidement en quelques heures.

Gélose inclinée. — Colonies brillantes.

Gélose Veillon. — Colonies rondes.

Gélose au sous-acétate de plomb. — Pas de noircissement.

Pomme de terre. — Culture très abondante, terne au début, devient brillante puis brune.

Bouillon peptoné. — Voile en surface. Présence d'indol.

Bouillon glucosé. — Culture très abondante.

Eau peptonée. — Culture très abondante, dépôt de germes au fond du tube; légèrement pigmentée en brun.

Gélatine. — Liquéfiée.

Lait. — Coagulé.

Sérum coagulé. — Culture très abondante, luisante. Protéolyse. Pigment brun.

Bile. — Décolorée.

Action sur les sucres. — Dans ce cas nous avons employé des géloses sucrée tournesolée.

Mannitol :	décoloré.
Arabinose. :	—
Maltose :	—
Lactose :	—

Conclusions. — Ce germe appartient à la série des bactéries saprophytes, voisines de la bactéridie charbonneuse. Il présente certains caractères du *Bacillus mégatorium* et du *Bacillus anthracoïdes.* Mais certaines anomalies, telles que l'absence d'hydrogène sulfuré, ne permettent pas d'affirmer la nature exacte de ce germe.

Echantillon b.

I. Caractères microscopiques du germe isolé.

Formes en cocci, isolées ou groupées en diplocoques, en courtes chaînettes ou en tétrades. Non capsulées, non sporulées. Gram +.

II. Caractères culturaux.

Aérobie strict. Pousse en vingt-quatre heures.

Gélose inclinée. — Culture en grain de semoule. Colonies non confluentes. humides.

Bouillon peptoné. — S'éclaircit en haut du tube ; le dépôt se désagrège facilement.

Eau peptonée. — Culture abondante.

Gélatine. — Pas de liquéfaction. Colonies rondes, isolées.

Lait coagulé. — Très légère rétraction du caillot en vingt-quatre heures.

Sérum coagulé. — Culture non visible ; à jour frisant : petites colonies isolées.

Action sur les sucres. — En bouillon sucré.

Lactose.	culture de	pH final	5,5
Mannitol	—	—	6
Lévulose.	—	—	6
Esculine.	—	—	6,5

Conclusions. — Ces caractères biologiques et l'aspect microscopique du germe nous donnent de fortes présomptions en faveur d'un entérocoque. L'animal de choix dans ce cas est la souris blanche. Nous avons inoculé 1 cc. d'une émulsion en sérum physiologique de cette culture dans la patte d'une souris ; nous n'avons constaté aucune réaction.

Cas du vaccin U n° 93 (staphylocoques).

Trois échantillons ont été examinée.

Echantillon a.

I. Caractères microscopiques du germe isolé.

Bâtonnet épais assez long, Gram + non capsulé, spores terminales au début, deviennent centrales après passages répétés sur gelose, mobilité très faible : oscillation sur place.

II. Caractères culturaux.

Anaérobie facultatif.
Gélose inclinée. — Culture abondante en vingt-quatre heures, luisante; colonies rondes, petites, translucides.
Gélose Veillon. — Petites colonies rondes.
Gélose au sous-acétate de plomb. — Pas de noircissement.
Pomme de terre. — Culture non apparente longue à pousser.
Bouillon peptoné. — Léger voile en surface, traces d'indol.
Bouillon glucosé. — Culture sans voile, en surface.
Eau peptonée. — Culture sans voile, en surface.
Lait. — Pas de coagulation.
Sérum coagulé. — Culture peu abondante.
Bile. — Décolorée.
Action sur les sucres :
Mannitol : virage au rouge de la gélose tournesolée.
Arabinose : décoloration de la gélose.
Lactose : virage au rouge.

Conclusions. — Malgré l'absence du pouvoir protéolytique, l'aspect microscopique du germe, le rapprochent des bactéries voisines de la bactéridie charbonneuse d'après la classification de Besson.

Echantillon b.

I. Caractères microscopiques du germe isolé.

Bâtonnet long, épais, Gram +, non capsulé, à spores centrales. Très peu mobile.

II. Caractères culturaux.

Anaérobie facultatif. Culture abondante en vingt-quatre heures.
Bouillon peptoné. — Culture avec voile en surface.
Bouillon glucosé. — *idem.*
Eau peptonée. — Culture avec voile en surface. Présence d'indol.

Gélatine. — Très petites colonies rondes, voile en surface, liquéfiée.
Lait. — Coagulé.
Sérum coagulé. — Culture suivie de protéolyse.
Gélose. — Culture en voile plissé.
Bile. — Décolorée.
Action sur les sucres.

Mannitol : fermentation.
Arabinose : décoloration.
Maltose : très légère décoloration au fond du tube et voile plissé remontant sur les parois.
Lactose : Léger virage au rouge.

Conclusions. — Ces caractères sont à peu près ceux *du bacillus subtilis*; l'aspect des cultures est une forte présomption en faveur de cette bactérie.

Echantillon c.

I. Caractères microscopiques du germe isolé.

Bâtonnet présentant une coloration bipolaire. Mobile; non sporulé. Gram —.

II. Caractères culturaux.

Aérobie strict. Pousse rapidement en vingt-quatre heures.
Gélose. — Crème blanche très épaisse, luisante.
Gélose au sous-acétate de plomb. — Pas de noircissement.
Pomme de terre. — Crème luisante, jaunâtre, très épaisse.
Bouillon peptoné. — Culture abondante, voile plissé en surface et croûtes adhérentes au tube.
Eau peptonée. — Culture avec voile en surface. Pas d'indol.
Gélatine. — Liquéfiée.
Lait. — Pas coagulé à froid. Coagulation après léger chauffage.
Sérum coagulé. — Petites colonies isolées, lenticulaires.
Bouillon anaérobie. — Pas de culture.
Bile. — Culture avec voile en surface.
Bouillon au rouge neutre. — Réduction, fluorescence jaune.
Action sur les sucres.

Mannitol :	pH final	6,5
Arabinose :	—	6
Glucose :	—	6,5
Lévulose :	—	6
Maltose :	—	8
Lactose :	—	6
Saccharose :	—	6

Dans le culot de centrifugation du contenu d'une ampoule, on trouve les mêmes germes Gram à coloration bipolaire.

Conclusions. Ces caractères biologiques feraint penser à un colibacille, mais la liquéfaction de la géalatine est un argument important contre cette hypothèse.

Cas du vaccin U n° 94 (diplocoques de Neisser synocoques staphylocoques, entérocoques, colibacilles, pseudo-diphtériques).

L'aspect microscopique et les caractères culturaux sont à peu pfès les mêmes que ceux décrits au sujet du vaccin **U** n° 92, échantillon b. Il s'agit vraisemblablement d'un entérocoque.

Résultats : *de l'essai de stérilité.*

Nous avons trouvé une proportion de vaccins souillés d'environ 7 pour 120 (et non 7% comme semblerait l'indiquer le tableau, car nous avons parfois examiné plusieurs échantillons d'un même vaccin préparés à des dates différentes.

Nous n'avons trouvé qu'un seul cas de vaccin injectable non stérile ; les 6 autres provenant tous du même laboratoire sont des vaccins employés en pansements : 3 sont souillés par des saprophytes, 2 par des entérocoques, le dernier par un germe mal déterminé présentant quelques caractères du colibacille. D'après la littérature accompagnant les échantillons, il est recommandé de ne pas employer ces vaccins en injection, mais on en garantit néanmoins la parfaite stérilité. Nous avons conclu après enquête que ces produits ne jouissent pas auprès du corps médical d'un grand crédit, mais avant de se faire une opinion, encore a-t-il fallu les expérimenter et dans l'état actuel des choses ce sont les malades qui font les frais de l'expérimentation.

L'examen du culot de centrifugation permet également de juger du soin apporté à la préparation des vaccins; il est toujours possible d'obtenir un produit stérile, il suffit de chauffer une dernière fois les ampoules scellées en vue de suppléer au manque d'asepsie des manipulations; mais ces chauffages

répétés dépouillent les germes de leurs propriétés antigéniques et favorisent leur autolyse. On obtient un vaccin stérile mais qui n'est plus apte à donner l'immunité qu'on attend de lui.

De l'examen du culot de centrifugation

Nous avons trouvé 7 vaccins sur 120 examinés contenant des germes étrangers à ceux qui sont indiqués sur l'étiquette. Ce sont les vaccins :

A n° 30 (qui contient des saprophytes)
A n° 4 *id.*
D n° 19 *id.*
D n° 22 (bâtonnets Gram négatif).
G n° 28 (saprophytes)
J n° 40 (bâtonnets Gram négatif)
N n° 70 (présence de cocci Gram positif à la place des germes Gram négatif annoncés).

D'autre part nous avons trouvé 15 vaccins partiellement ou même totalement autolysés; ce sont les vaccins.

D n° 17, 19, 20, 21.
F n° 26.
H n° 29.
N n° 70.
R n° 85-86.
T n° 91.

V n° 96.
X n° 97, 98, 99, 100.

Dans ces derniers en particuliers il n'a pas été possible de retrouver un seul germe dans le culot de centrifugation bien que l'étiquette affirme la présence d'un milliard de bactéries par centimètre cube.

Il y a cependant au sujet de l'autolyse des vaccins une restriction à faire, tous les produits précités ne sont peut-être pas condamnables. La vaccinothérapie utilise des vaccins contenant les protides de désintégration des germes;

tandis que la vaccination préventive exige des corps microbiens intacts ; la théorie de Whrigt bien que discutée par Besredka est encore universellement admise et l'expérience a montré que l'immunité la plus solide est acquise par cette méthode.

Quelques laboratoires indiquent dans quel but on doit utiliser leurs produits ; il serait souhaitable que cette mesure soit adoptée par tous les laboratoires car, si les vaccins préventifs sont facilement contrôlables au point de vue de leur stérilité, innocuité, efficacité, authenticité, les vaccins curatifs sont eux plus difficiles à identifier et seule l'expérience permet d'apprécier leur efficacité.

La loi du 25 avril 1895 oblige le fabricant à déclarer sur l'étiquette du flacon la date de préparation des produits d'origine microbienne. Nous avons cependant trouvé 64 vaccins ne donnant aucune indication relative soit à leur date de préparation, soit à celle de leur limite d'utilisation, c'est le cas en particulier du vaccin H n° 29 stérilisé par la chaleur à une température de 56°, donc dans des conditions favorables à sa conservation, et qui montre à l'examen du culot de centrifugation des germes profondément altérés, non reconnaissables ; vraisemblablement cette altération est imputable au vieillissement.

Le taux de l'antiseptique ajouté devrait également faire l'objet d'une réglementation ; les vaccins R n° 85 et 86 contiennent une quantité exagérée de phénol ; à l'ouverture de l'ampoule il se dégage une forte odeur de ce corps ; l'examen microscopique révèle une autolyse très marquée des bactéries.

Conclusions

1° La loi du 14 juin 1934 ne donne pas d'indicasions plus précises que celle du 25 avril 1895, au sujet du contrôle des produits d'origine microbienne.

2° Ce contrôle est possible, et il est nécessaire. Pour être efficace il doit être fréquent et inopiné.

3° Il doit incomber à un laboratoire officiel spécialement organisé en vue de ce genre d'expertise.

4° Il doit porter sur la stérilité, l'authenticité, l'innocuité et l'efficacité des produits vendus dans le commerce.

CHAPITRE IV

ETUDE DES ANTIVIRUS

Nous avons résumé au chapitre II les grandes lignes de la théorie de l'immunité locale de Besredka. A côté du procédé classique de préparation des antivirus que nous avons décrit, il existe des méthodes plus rapides pour libérer ces corps de leur stroma microbien : on peut provoquer une destruction brutale des germes par action de la soude, du bactériophage ou du bacille pyocyanique; selon Besredka ces procédés seraient plus expéditifs mais moins certains. D'autre part, Duchon fait remarquer que les antivirus obtenus par action du Bacille pyocyanique ont une individualité propre : une culture microbienne abandonnée à l'étuve 8 à 15 jours contient les produits diffusibles des bactéries, mais lorsqu'on provoque l'éclatement brutal des germes à l'aide d'un agent caustique ou lysant, le liquide contient non seulement les produits libérables par osmose, mais également les endotoxines et les protides de désagrégation des microbes, auxquelles vient s'ajouter l'action propre de l'agent employé, pyocyanéine ou bactériophage. On désigne habituellement par un même vocable des produits en réalité un peu différents.

La séparation du bouillon et des germes s'opère soit par filtration à travers une bougie Chamberland, soit par centrifugation.

Nous avons divisé l'étude des antivirus en 2 parties, l'une qui traite des antivirus liquides, l'autre, des antivirus incorporés aux corps gras.

1° **Antivirus liquides.** — Vingt-huit produits commerciaux ont été examinés au point de vue de leur stérilité, du contenu du culot de centrifugation, et de leur caractère d'identification.

a) *Essai de stérilité.* — Nous avons fait pour chaque produit un ensemencement en aérobiose et anaérobiose en suivant exactement le même mode opératoire que pour les vaccins; pour contrôler cette première opération nous avons laissé séjourner 48 heures à l'étuve une ampoule non ouverte, afin de constater si aucune culture n'apparaissait dans le milieu. Cette épreuve est possible avec les antivirus qui, du fait de leur mode d'obtention, constituent un bouillon nutritif.

Nous n'avons trouvé aucun produit contaminé.

b) *Examen du culot de centrifugation.* — Nous avons vu que la séparation des germes peut se faire par centrifugation; dans ces conditions il est normal de trouver encore quelques bactéries en suspension dans le liquide; la présence de bâtonnets Gram négatif dans des antivirus staphylococciques s'explique également par l'emploi du Bacille pyocyanique comme agent lytique; enfin certains fabricants laissent intentionnellement une partie des bactéries en suspension dans l'antivirus. Par contre la présence de spores ou de saprophytes dans les produits prouve un manque de soin évident dans leur préparation. Nous n'avons rencontré qu'un cas semblable, c'est celui de l'antivirus polyvalent G dont le culot de centrifugation revélait la présence de spores et de bâtonnets Gram positif. Enfin signalons le soin avec lequel sont préparés les produits A stérilisés uniquement par filtration sans chauffage ultérieur et qui ne contiennent aucune bactérie en suspension.

c) *Essai d'identification.* — Cet essai consiste à vérifier le pouvoir empêchant *in vitro* des antivirus, envers les germes homologues.

A l'aide d'une pipette Pasteur stérile on transvase les antivirus dans des tubes également stériles, on verse environ 2 cm^3 de liquide par tube, puis on les porte à l'étuve 24 heures pour vérifier l'asepsie de cette manipulation.

On repique sur gélose des cultures des mêmes germes ayant servi à la préparation de l'antivirus en étude. Lorsque les cultures sur gélose ont poussé et qu'on a vérifié la stérilité des tubes placés à l'étuve, on ensemence légèrement à l'aide d'un ensemenceur droit, une souche dans chaque tube. Nous employons chaque fois le plus grand nombre possible de souches et de races microbiennes.

On attend 48 heures pour juger de l'intensité des cultures ayant poussé dans l'antivirus, et par un Gram on vérifie que c'est bien le germe ensemencé qui a poussé.

Les antivirus injectables se présentent sous l'aspect d'un liquide incolore; nous avons attribué l'absence de culture dans certains d'entre eux à la pauvreté du milieu nutritif suivant en cela l'opinion de Renaux de Bruxelles. Pour vérifier cette hypothèse nous avons additionné l'antivirus d'une quantité égale de bouillon de foie de veau; après 24 heures d'un séjour à l'étuve nous avons fait avec les mêmes souches un deuxième ensemencement. Nous avons constaté que le bouillon staphylococcique pour pansement du laboratoire D laisse pousser, à des degrés variables 4 souches différentes de staphylocoques, même lorsqu'on fait l'essai avec le produit pur. L'antivirus staphylococcique injectable fabriqué par le même laboratoire et qui est incolore, ne permet la culture d'aucune souche; l'addition d'une quantité égale de bouillon enrichit un peu le milieu en éléments nutritifs et on obtient dans ce cas des cultures peu abondantes. Il paraît évident que les modes de préparation de ces deux variétés d'un même produit sont différents et c'est ici que nous devons rappeler les travaux de Tzeklnowitzer, Goldenberg, et Tzouverkalov sur l'emploi de milieux synthétiques pour la production d'antivirus. Il semble qu'il y ait une certaine confusion de termes dans les noms donnés à de soi-disant antivirus obtenus par l'action de la soude sur une émulsion de germes en milieu physiologique. Seul un essai d'efficacité sur l'animal permettrait de résoudre le problème; on pourrait expérimenter les antivirus staphylococciques et colibacillaires sur le

cobaye et les antivirus typhoïdiques sur le lapin. Ce serait le seul moyen de faire la discrimination entre des produits qui défient toute analyse chimique et dont le contrôle bactériologique nous apparaît comme bien incertain. Nous signalons également les produits E dont le mode de préparation semble changer suivant les lots car certains (antivirus staphylococcique, typhoïdique) employés purs ne laissent pas pousser les germes, tandis que d'autres préparés à des dates différentes, permettent des cultures variables mais quelquefois très abondantes, (antivirus intestinal, antivirus contre l'infection, antivirus contre les suppurations).

Nous avons, d'autre part, recherché la présence possible d'antiseptique dans certains produits (antivirus intestinal F et anticoryza G) qui empêchent systématiquement les germes de pousser. Besredka fait remarquer que certains antivirus ont un pouvoir empêchant vis-à-vis de germes non homologues, mais que le fait est plutôt rare. Nous avons ensemencé des souches étrangères dans ces produits, l'absence complète de culture dans l'antivirus F nous donne de fortes présomptions en faveur de la présence d'un antiseptique.

Dans ce tableau ci-contre nous avons résumé les résultats obtenus.

Nom du laboratoire	Nom de l'antivirus	Date limite d'utilisation	Essai de stérilité	Examen du culot de centrifugation	Souches ensemencées	Résultats culture obtenue
A	Anti-pyogène	1938	Stérile	Aucun germe	Staphylo doré C	Très peu abond
					Staphylo blanc C	Peu abondante
					Staphylo doré M	Assez abond.
					Streptocoque B	Peu abondante
—	Colibacillaire injectable	1936	Stérile	Aucun germe	Colibacille B	Peu abondante
					Colibacille Bl	*id.*
					Colibacille L	Assez abond.
					Colibacille D	*id.*
					Colibacille G	Abondante
					Colibacille Ma	Peu abondante
—	Colibacillaire ingérable	1936	Stérile	Aucun germe	Colibacille B	Abondante
					Colibacille Bl	*id.*
					Colibacille L	*id.*
					Colibacille D	*id.*
					Colibacille G	*id.*
					Colibacille Ma	*id.*
—	Staphylococcique injectable	1938	Stérile	Aucun germe	Staphylo blanc C	Peu abondante
					Staphylo doré C	*id.*
					Staphylo blanc M	Assez abond.
					Staphylo doré M	Très peu abond.
B	Antifuronculeux pansement	illimitée	Stérile	Nombreux bâtonnets Gram — et cocci Gram +	Staphylo blanc C	Peu abondante
					Staphylo doré C	Très abondante
					Staphylo blanc M	Très peu abond.
					Staphylo doré M	Assez abond.
—	Colibacillaire	illimitée	Stérile	Quelques bâtonnets Gram —	Colibacille D	Très abondante
					Colibacille Mz	*id.*
					Colibacille L	Très faible
					Colibacille G	Très abondante
					Colibacille Md	*id.*
					Colibacille F	Abondante
					Colibacille Bl	Grêle
					Colibacille B	Abondante
C	Anti-pyogène	1937	Stérile	Tr. nombreux bâtonnets Gram —	Bac. pyocyanique PeFA	Très abondante
					Bac. pyocyanique PeA	*id.*
					Staphylo blanc C	*id.*
					Staphylo blanc M	*id.*
					Staphylo blanc D	*id.*
					Staphylo doré M	*id.*
					Staphylo doré C	*id.*
					Staphylo doré D	*id.*
					Streptocoque B	*id.*
C	Staphylococcique 4 lots de date diff. examinés	1937	Stérile	Nombreux bâtonnets Gram —	Staphylo blanc M	Abondante
					Staphylo doré M	Assez grêle
		1938			Staphylo citrin M	Très abondante
					Staphylo blanc D	Abondante
					Staphylo blanc C	Assez abond.
					Staphylo doré C	*id.*
					Staphylo doré Mu	*id.*
—	Colibacillaire	Avril 1938	Stérile	Quelques bâtonnets Gram —	Colibacille L	Très grêle
					Colibacille D	A peine visible
					Colibacille G	*id.*

Nom du laboratoire	Nom de l'antivirus	Date limite d'utilisation	Essai de stérilité	Examen du culot de centrifugation	Souches ensemencées	Résultats culture obtenue
					Colibacille Md	*id.*
					Colibacille E	*id.*
					Colibacille Mz	*id.*
					Staphylo blanc C (pour rechercher la présence possible d'un antiseptique).	Peu abondante
—	Intestinal	1935	Stérile	Quelques bâtonnets Gram — et cocci Gram +	Colibacille G	Peu abondante
					Colibacille Mz	*id.*
					Bac. pyocyanique PeFA	Abondante
					Staphylo doré C	Peu abondante
					Entérocoque A	Très grêle
					Staphylo blanc M	Peu abondante
					Bac. d'Eberth MN	*id.*
					Bac. paratyphique BS	Assez abond.
D	Staphylo-coccique Pour pansement	Non indiquée	Stérile	Aucun germe	Staphylo blanc C	Peu abondante
					Staphylo doré C	Abondante
					Staphylo blanc M	Peu abondante
					Staphylo doré M	*id.*
—	Staphylo-coccique injectable	»	Stérile	Aucun germe	Staphylo blanc C	Aucune culture
					Staphylo doré C	*id.*
					Staphylo blanc M	*id.*
					Staphylo doré M	*id.*
					On fait une 2e expérience avec parties égales de bouillon de foie de veau et d'antivirus; on emploie les mêmes souches	Cultures faibles
D	Colibacillaire injectable	Non indiquée	Stérile	Aucun germe	Colibacille L	Aucune culture
					Colibacille D	*id.*
					Colibacille B	*id.*
					Colibacille G	*id.*
					2e expérience avec parties égales de bouillon de foie de veau et d'antivirus dans les 4 cas	Cultures abond.
E	Antityphoïdique TAB (germes laissés en suspension)	1937	Stérile	Bâtonnets Gram — et cocci Gram +	Germes ci-dessous dans antivirus pur	Aucune culture
					2e expérience avec parties égales de bouillon de foie de veau et d'antivirus	
					Proteus Syrie	Culture abond.
					Proteus X19	
					Toulon	*id.*
					Paratyphique A	*id.*

Nom du laboratoire	Nom de l'antivirus	Date limite d'utilisation	Essai de stérilité	Examen du culot de centrifugation	Souches ensemencées	Résultats culture obtenue
					Paratyphique B	*id.*
					Bac. d'Eberth	*id.*
					Colibacille Am	*id.*
					Colibacille AF	*id.*
					Bac. pyocyanique PeA	*id.*
					Bac. pyocyanique PFA	*id*
					Colibacille E	*id.*
					Bac. d'Eberth MN	*id.*
—	Anti-staphylo-icoccique njectable	1937	Stérile	Cocci Gram +	Germes ci-dessous dans antivirus pur	Aucune culture
					2e expérience avec parties égales de bouillon de foie et d'antivirus	
					Staphylo blanc M	Abondante
					Staphylo doré M	*id.*
					Staphylo doré C	Très abondante
					Staphylo blanc C	Abondante
—	Anti-staphylo-coccique ingérable	1936	Stérile	Coccì Gram +	Mêmes expériences que pour le précédent	Mêmes résultats que pour le précédent
E	Anti-infectieux injectable	1936	Stérile	Cocci Gram + bâtonnets Gram —	On ensemence dans l'antivirus pur	
					Bac. pyocyanique PeA	Peu abondante
					Bac. pyocyanique PeFA	*id.*
					Staphylo blanc M	Abondante
					Staphylo doré M	*id.*
					Staphylo blanc C	Assez abond.
					Staphylo doré C	*id.*
					dColibacille Md	*id.*
					Colibacille D	*id.*
					Colibacille G	*id.*
					Entérocoque A	Aucune culture
—	Anti-infectieux ingérable	1936	Stérile	Bâtonnets Gram — cocci Gram +	On ensemence dans l'antivirus pur	
					Staphylo blanc M	Assez abond.
					Staphylo doré M	*id.*
					Staphylo blanc C	*id.*
					Staphylo doré C	*id.*
					Colibacille Md	*id.*
					Colibacille G	Peu abondante
					Bac. pyocyanique PeA	Assez abond.
					Entérocoque A	Aucune culture

Nom du laboratoire	Nom de l'antivirus	Date limite d'utilisation	Essai de stérilité	Examen du culot de centrifugation	Souches ensemencées	Résultats culture obtenue
—	Intestinal ingérable	1937	Stérile	Bâtonnets Gram — Cocci Gram +	On ensemence dans antivirus pur	
					Entérocoque A	Aucune culture
					Bac. pyocyanique PeA	Assez grêle
					Bac. pyocyanique PeFA	*id.*
					Colibacille Md	Assez abond.
					Colibacille G	Très peu abond.
					Colibacille D	Assez abond.
—	Antipyogène pansement	1937	Stérile	Très rares bâtonnets Gram —	Streptocoque B	Assez abond.
					Bac. pyocyanique PeA	Abondante
					Bac. pyocyanique PeFA	*id.*
					Colibacille C	Assez abond.
					Colibacille Mz	Très abondante
					Staphylo blanc M	Peu abondante
					Staphylo blanc C	*id.*
					Entérocoque A	Peu abondante
F	Polyvalent	1935	Stérile	Très rares bâtonnets Gram —	Colibacille B	Aucune culture
					Colibacille G	*id.*
					Colibacille Md	*id.*
					Colibacille Mz	*id.*
					Colibacille F	*id.*
					Staphylo doré C	*id.*
					Staphylo blanc C	*id.*
					Staphylo blanc M	*id.*
					Staphylo doré M	*id.*
					Entérocoque A	*id.*
F					Pour déceler la présence d'un antiseptique (on ensemence des germes non homologués)	
					Bac. pyocyanique PeA	Aucune culture
					Bac. pyocyanique PeFA	*id.*
					Bac. d'Eberth I	*id.*
					Bac. d'Eberth MN	*id.*
					Bac. subtilis	*id.*
						Conclusion : présence probable d'antiseptique
G	Puerpéral mixte	Illimitée	Stérile	Aucun germe	Streptocoque B	Faible
					Streptocoque L	*id.*
					Staphylo blanc M	Abondante
					Staphylo doré M	*id.*
	Puerpéral streptococcique	»	Stérile	Aucun germe	Streptocoque L	Culture

Nom du laboratoire	Nom de l'antivirus	Date limite d'utilisation	Essai de stérilité	Examen du culot de centrifugation	Souches ensemencées	Résultats culture obtenue
—	Staphylo-coccique	»	Stérile	Aucun germe	Staphylo blanc C	Abondante
					Staphylo doré M	*id.*
					Staphylo blanc M	*id.*
					Staphylo citrin M	*id.*
					Colibacille Ab	*id.*
					Colibacille Zl	*id.*
					Colibacille D	*id.*
H	Formule de Delbet (us. ext.)	1935	Stérile	Quelques cocci Gram +	Staphylo doré C	Abondante
					Staphylo blanc C	*id.*
					Staphylo doré M	Peu abondante
					Staphylo blanc M	Assez abond.
					Bac. pyocyanique PeFA	Très abondante
					Bac. pyocyanique PeA	*id.*
					Streptocoque B	Peu abondante
—	Polyvalent (us. ext.)	Illimitée	Stérile	Bâtonnets Gram — cocci Gram + en chaînettes en diplocoques ou isolés Spores et bâtonnets Gram +	Streptocoque L	Peu abondante
					Staphylo doré M	Abondante
					Staphylo citrin M	Aucune culture
					Colibacille Ab	Abondante
					Colibacille Zl	*id.*
					Colibacille G	Faible
					Colibacille D	Aucune culture
					Entérocoque T	*id.*
					Entérocoque 63-36R	A
					Entérocoque X	Aucune culture
					Proteux X19	Abondante
					Toulon	Aucune
					Proteus X9 Syrie	*id.*
—	Anti-coryza	Illimitée	Stérile	Aucun germe	Staphylo blanc C	Aucune culture
					Staphylo doré C	*id.*
					Staphylo blanc M	Peu abondante
					Staphylo doré M	Aucune
					Recherche d'un antiseptique : on ensemence des souches non homologués	
					Bac. pyocyanique PFA	Culture abond.
					Bac. d'Eberth I	Aucune culture
						Conclusion : absence probable d'antiseptique

Résultats. — Sur 28 antivirus examinés 7 ont un pouvoir empêchant total vis-à-vis des germes homologues : ce sont les antivirus

Colibacillaire C.

Staphylococcique injectable D.

Colibacillaire injectable D.

Intestinal F.

Typhoïdique E.

Et contre le coryza G.

Les autres produits permettent la culture à des degrés variables des différentes souches ensemencées.

Conclusions. — Est-ce à dire que ces 21 produits soient totalement dépourvus de valeur thérapeutique ? De nombreuses observations semblent démontrer le contraire. Les pouvoirs vaccinant et empêchant, superposés dans le mode de préparation préconisé par Besredka à savoir le vieillissement lent d'une culture microbienne, ne sont-ils pas dissociés du fait de certaines variantes apportées à ce procédé initial ? Il en résulterait la conservation ou du pouvoir vaccinant seul ou du pouvoir empêchant. Envisagée sous cet aspect la théorie de Besredka fait appel à l'existence non pas d'un facteur inconnu appelé antivirus dont la matérialité n'est d'ailleurs pas démontrée, mais à celle de deux facteurs indépendants concourant chacun à leur manière à créer l'immunité. Pour bien dégager la pensée de Besredka nous ne pouvons mieux faire que de citer quelques-uns des passages du chapitre premier de son livre *L'Antivirusthérapie.*

« Pour nous résumer, les antivirus se prêtent en règle générale à la culture des microbes autres que celui avec lequel ils sont préparés ; quelquefois ils empêchent la culture des microbes étrangers. Mais ce qu'ils empêchent toujours, c'est le développement des microbes correspondants, c'est là que réside la spécificité de leur action inhibitrice », et plus loin « Quel est, dans l'immunisation locale, le rôle du pouvoir empêchant des antivirus ? Ce rôle, nous ne saurions trop y insister, est d'ordre secondaire » ; ailleurs il le définit nettement :

« Les pansements spécifiques à base de cultures filtrées ont ceci de particulier qu'ils s'adressent à la fois aux microbes et aux cellules de l'organisme. Ils s'opposent à la pullulation des germes et activent les fonctions de défense de ces dernières. »

Comment expliquer l'action d'un antivirus dans lequel les germes se développent presque aussi bien que dans un bouillon de culture, mais qui est doué cependant vis-à-vis des cellules d'un pouvoir de vaccination? Les travaux de S. Ohba et H. Takekawa pourraient éclaircir la question. Pour ces auteurs l'antivirus transforme les germes virulents en germes saprophytes. Mais ils sont réfutés par Mme Vera Gouzartchik-Glarner, collaboratrice de Besredka, qui après avoir laissé en contact plusieurs jours des vibrions cholériques dans l'antivirus correspondant constate que ces germes n'ont rien perdu de leur virulence envers le cobaye.

Il serait intéressant de faire des expériences non pas avec un antivirus type préparé au laboratoire, comme font la plupart de ceux qui étudient la question, mais avec des produits commerciaux que l'on éprouverait simultanément sur les animaux, *in vitro*, et auxquels viendraient se joindre des observations médicales précises; peut-être mettrait-on en lumière de cette façon le rapport exact entre les pouvoirs vaccinant et empêchant.

Afin de nous rendre compte s'il est facile d'obtenir un bouillon de culture vacciné, nous avons préparé selon la technique de Besredka un antivirus staphylococcique à l'aide du staphylocoque doré souche Cr.

Après deux ensemencements, suivis chacun d'une filtration, nous sommes arrivée au résultat cherché; le staphylocoque doré Cr ne poussait plus dans le filtrat, non plus que deux autres races microbiennes : les staphylocoques doré M et blanc C.

Il est donc assez facile de préparer des antivirus par vieillissement d'une culture, méthode préconisée par Besredka.

2° **Pommades à base d'antivirus.** — L'absorption des antivirus par la peau est possible à la suite d'une macération des tissus provoquée par l'application de pansements humides, ou d'une friction énergique qui laisse sur la peau de petites érosions invisibles à l'œil nu mais qui sont autant de voies de pénétration de la substance; la forme pommade adoptée par certains laboratoires se prête particulièrement bien à ce dernier mode d'application des antivirus. Les excipients employés sont variables, les plus en faveur sont les gelées molles à base de glycérolé d'amidon et la lanoline dont le pouvoir kératinisant est bien connu. Destinées à être appliquées sur des plaies, il est évident que ces préparations doivent être aseptiques; la stérilisation de la masse et des tubes d'étain est facile à réaliser, sans préjudice pour l'éfficacité du produit, les antivirus supportant une température de 110° sans subir d'altération.

Nous avons examiné 14 produits commerciaux au point de vue de leur stérilité et de leur caractère d'identification.

a) *Essai de stérilité.* — La technique suivie pour éprouver les pommades varie un peu de celle utilisée pour les antivirus liquides. L'examen se fait à l'aide des mêmes milieux de culture à savoir, gélose inclinée , bouillon de foie de veau pour l'essai en aérobiose, et gélose profonde de Veillon et bouillon anaérobie avec culot d'albumine pour l'essai en anaérobiose.

Mode opératoire. — Pour faire l'ensemencement en bouillon, et en bouillon anaérobie on décapuchonne le tube d'étain, on en flambe l'orifice et on fait couler dans le milieu de culture une forte quantité de pommade (gros comme une noix environ), en prenant les mêmes précautions que celles indiquées précédemment, au sujet de la régénération du bouillon anaérobie et de l'asepsie des manipulations.

L'ensemencement en gélose profonde de Veillon et sur gélose inclinée se fait à l'aide d'une pipette stérilisée dont l'extrémité est maintenue fermée et que l'on plonge dans l'intérieur du tube de pommade; on porte ensuite la pipette dans chacun des deux milieux.

Résultats. — Sur 14 pommades examinées nous en avons trouvé 5 qui n'étaient pas stériles; quatre d'entre elles appartenaient au même laboratoire A; l'aspect très particulier des cultures obtenues en bouillon et sur gélose (voile plissé en surface, gélose recouverte d'une culture gaufrée et mate) les caractères microscopiques des germes étaient en faveur de l'hypothèse d'un *Bacillus subtilis* dans les quatre cas.

La pommade B à base d'antivirus staphylococcique et streptococcique donnait une culture de cocci Gram positif dont nous avons fait l'identification.

Aspect microscopique du germe : cocci Gram positif.

Caractères culturaux : Anaérobie facultatif. Pousse en 24 heures.

Sur gélose inclinée : culture peu visible, colonies petites rondes isolées ou confluentes, humides.

Gélose au sous-acétate de plomb : pas de noircissement.

Pomme de terre : culture peu visible.

Bouillon peptoné : culture abondante.

Eau peptonée : culture sans production d'indol.

Gélatine : petites cultures, rondes, isolées. Pas de liquéfaction.

Lait : coagulé (p H final 5).

Sérum coagulé : culture grêle, sèche, très peu visible, pas de protéolyse.

Bouillon anaérobie blanc d'œuf : culture.

Bile : culture abondante.

Bouillon au rouge neutre : pas de virage.

Action sur les sucres :

Mannitol	pH	final	5,5
Arabinose	—	—	6
Glucose	—	—	5,5
Lévulose	—	—	5,5
Maltose	—	—	5,5
Lactose	—	—	5,5
Saccharose	—	—	5,5

Conclusions. — Les caractères culturaux et l'aspect des colonies correspondent à ceux de l'entérocoque.

Les pommades A (dentifrice) C, D, et G (contre le coryza) contenaient des essences aromatiques jouant certainement un rôle antiseptique car un échantillon du produit C dont le tube d'étain portait une déchirure n'a donné après ensemencement fait un niveau de la déchirure, aucune culture en aérobiose et anaérobiose.

b) *Essai d'authenticité.* — Cet essai n'a été pratiqué que sur les pommades stériles. Pour le réaliser nous avons employé deux procédés :

1° En bouillon : Après avoir coulé dans des tubes de bouillon une forte quantité de l'antivirus à étudier, et éprouvé l'asepsie de cette manipulation par un séjour de 24 heures à l'étuve des tubes en question, nous avons ensemencé les souches microbiennes homologues; comme pour les antivirus liquides nous avons ensuite vérifié que les cultures obtenues correspondaient au germe introduit.

2° En gélose : la gélose était fondue au bain-marie puis nous avons coulé dans le tube à essai gros comme une noix de pommade, nous avons agité fortement le tube de façon à émulsionner la pommade dans la gélose et nous l'avons incliné dès que le milieu était presque froid; nous avons ensemencé les germes à la surface comme on ferait sur gélose inclinée ordinaire.

Résultats. — Les pommades A (dentifrice) C, D et G (contre le coryza) contenant une essence ou une substance antiseptique ne permettaient la culture d'aucune souche microbienne.

La pommade H contenant à la fois de l'antivirus et du bactériophage n'en donnait pas davantage.

Les quatre pommades restantes permettaient la culture des souches microbiennes introduites.

Dans le tableau ci-contre nous consignons les résultats obtenus.

Nom du laboratoire	Nom de la pommade	Essai de stérilité	Souches ensemencées	Résultats culture obtenue
A	Gynécologique n° 1	Non stérile (b. subtilis)		
	Gynécologique n° 2	Non stérile (b. subtilis)		
	Antipyorrhéique	Non stérile (b. subtilis)		
	Contre le coryza	Non stérile (b. subtilis)		
	Soins de la bouche	Stérile (présence d'un antiseptique)		
B	Antipyogène	Non stérile (entérocoque)		
C	Antifuronculeux	Stérile (présence d'un antiseptique)	Staphylo doré Mr	Pas de culture
			Staphylo doré Cr	*id.*
			Staphylo blanc Cr	*id.*
			Staphylo blanc Cr	*id.*
D	Antipyogène	Stérile (présence d'un antiseptique)	Staphylo doré Mr	Pas de culture
			Staphylo doré Cr	*id.*
			Staphylo blanc Mr	*id.*
			Staphylo blanc Cr	*id.*
E	Antipyogène	Stérile	Staphylo doré Mr	Cult. assez abond.
			Staphylo doré Cr	*id.*
			Staphylo blanc Mr	*id.*
			Staphylo blanc Cr	*id.*
F	Formule de Delbet	Stérile	Staphylo doré Mr	Abondante
			Staphylo blanc Mr	*id.*
			Staphylo doré Cr	*id.*
			Staphylo blanc Cr	*id.*
			B. pyocyanique PeFA	Très abondante
			B. pyocyanique PeA	*id.*
G	Antipyogène (contient parties égales de bactériophage et d'antivirus)	Stérile	Staphylo blanc Mr	Assez abondante
			Staphylo blanc Cr	*id.*
			Staphylo doré Mr	*id.*
			Staphylo doré Cr	*id.*
	Contre le coriza	Stérile (présence d'un antiseptique) aucune souche ne pousse)		
H	Antipyogène (contient parties égales de bactériophage et d'antivirus)	Stérile	Staphylo doré Mr	Pas de culture
			Staphylo blanc Mr	*id.*
			Staphylo doré Cr	*id.*
			Staphylo blanc Cr	*id.*
I	Antipyogène	Stérile	Staphylo blanc Mr	Peu abondantee
			Staphylo blanc Cr	*id.*
			Staphylo doré Mr	*id.*
			Staphylo doré Cr	*id.*

Conclusions. — La même remarque que pour les antivirus s'applique aux pommades à base d'antivirus : l'emploi de ces produits donne des effets thérapeutiques souvent supérieurs à ceux que l'on obtient par l'usage d'antiseptiques ordinaires. Le moyen d'identification que nous avons choisi, à savoir le pouvoir empêchant *in vitro* des antivirus apparaît bien incertain ; seul un essai d'efficacité pratique sur l'animal permettrait de juger la réelle valeur thérapeutique de ces produits. Pour les antivirus liquides comme pour les pommades à base d'antivirus on pourrait employer la technique décrite par Besredka qui consiste à inoculer des germes virulents en deux points de la peau rasée d'un cobaye, l'un de ces points ayant été préalablement vacciné par l'antivirus correspondant et l'autre n'ayant subi aucune préparation ; la différence entre les lésions consécutives à ces opérations prouverait la spécificité et l'efficacité de l'antivirus étudié.

Enfin il apparaît comme indispensable de pratiquer systématiquement un contrôle de la stérilité des antivirus commerciaux.

CHAPITRE V

ETUDE DES BACTERIOPHAGES

Hankin en 1896 observa le premier que l'eau de certains fleuves des Indes possède une action bactéricide sur les germes, mais la cause du phénomène lui échappa. En 1915, Twort décrivit la transformation d'une culture de staphylocoques, en une masse transparente présentant le caractère de transmissibilité en série à partir d'une quantité infiniment petite de matière. Devant les difficultés de choisir entre les diverses hypothèses qui se présentaient à son esprit, Twort ne conclut pas et se contenta de décrire les faits dans *The Lancet*, le 4 décembre 1915.

En 1916, à la suite d'une grave épidémie de dysenterie bacillaire, d'Hérelle eut l'occasion de remarquer l'action lytique d'un filtrat de selles de dysentérique convalescent vis-à-vis d'une culture de B. Shiga, et la transmission en série de ce pouvoir lysant. Ce dernier caractère, que l'on retrouve dans les deux expériences de Twort et d'Hérelle n'est pas une preuve que les deux phénomenes soient identiques. Selon d'Hérelle la bactériophagie proprement dite est un parasitisme de la bactérie par un élément beaucoup plus petit qu'elle, qui a pour conséquence une dissolution totale, sans résidu du germe infecté, tandis que la dégénérescence vitreuse de Twort ou bactérioclasie est une maladie du microbe se traduisant par sa fragmentation en grains visibles au microscope et colorables au Giemsa ; enfin, l'aspect des cultures attaquées par le bactériophage et les modalités du phénomène sont différents de ce qu'a décrit Twort. D'après les travaux de d'Hérelle, le bactériophage serait le plus petit

des êtres vivants; il présente en effet tous les caractères de la matière vivante, c'est-à-dire les pouvoirs d'adaptation, d'assimilation et de reproduction. La théorie de d'Hérelle remarquablement défendue par son auteur est cependant l'objet de nombreuses critiques. Quelle que soit l'opinion que l'on puisse avoir sur la cause de ce phénomène, c'est incontestablement d'Hérelle qui l'a le mieux décrit. Sa théorie a l avantage d'être simple, elle transpose à l'échelle des bactéries « des faits qui ont été peu à peu découverts pour les bactéries elles-mêmes vis-à-vis des macrobes » (Coutière). Pour mettre en évidence l'action lytique du bactériophage il faut se placer dans les conditions d'expérience exactement déterminées par d'Hérelle, en raison même de cette influence du milieu extérieur dont parle Wolman. Afin de justifier notre technique nous allons rappeler quelques-unes des propriétés du corpuscule bactériophage : ce germe présente les caractères physiques des colloïdes, il est invisible au microscope et à l'ultra-microscope, il présente l'effet Tyndall, il traverse les bougies Chamberland et les filtres de collodion, il ne sédimente pas spontanément mais seulement sous l'influence d'une très forte centrifugation (d'Hérelle, contredit par Bordet); il est sensible aux antiseptiques, mais est susceptible de s'adapter à certains d'entre eux (le glyérol par exemple); il est tué à une température de 75°; son milieu de culture est la bactérie elle-même; d'Hérelle examinant à l'ultra-microscope en goutte pendante, le mélange d'une culture bactérienne et du bactériophage correspondant, observa le fait suivant : certaines bactéries augmentent de volume puis éclatent au milieu d'un nuage de poussière scintillante que d'Hérelle suppose être une nuée de corpuscules bactériophages libérés après l'éclatement de la bactérie; nous avons pu constater un phénomène analogue de la façon suivante : on met en contact 2 heures à l'étuve une culture jeune de colibacilles et du coliphage (cette opération est appelée par d'Hérelle, incubation); dans un godet on mélange une goutte d'encre de Chine et 10 gouttes de produit d'incubation, on

étale sur lame et laisse sécher — puis on examine sans fixer, à l'aide de l'objectif à immersion; dans ces conditions les bactéries encore vivantes et non imprégnées d'encre de Chine apparaissent brillantes sur un fond noir; certaines se montrent boursouflées, déformées d'autres présentent des déchirures nettes, alors qu'une culture jeune de colibacilles examinée par le même procédé ne présente ni polymorphisme ni déchirure analogues.

Le bactériophage exige pour se reproduire une culture jeune de bactéries correspondantes; en effet la multiplication du bactériophage est fonction du degré de reproduction des microbes eux-mêmes.

Alors que la température optima pour la bactérie est de 37° une température de 32° convient mieux au bactériophage le pH influe très fortement sur le phénomène; au-dessous de pH 7 il ne se manifeste plus, une légère alcalinité au contraire le favorise. Après l'action d'un bactériophage très virulent, lorsque l'action va jusqu'au bout, on obtient un bouillon de culture parfaitement limpide sans aucun résidu, comparable à la « dissolution du sucre dans l'eau » (d'Hérelle). Certaines bactéries résistent à l'action du bactériophage soit par une immunité naturelle, soit par une immunité acquise au cours d'une légère maladie; dans ce cas après un début de lyse qui souvent passe inaperçu les bactéries résiduelles sont vaccinées, grâce à la production d'antiphages, contre une action ultérieure du bactériophage; enfin la production de sérum antiphage chez des animaux préparés avec un bactériophage justifie le rapprochement fait par Coutière et d'Hérelle entre les maladies des macrobes et celles des microbes; on appelle colonies secondaires les colonies issues de bactéries devenues résistantes; pour les éviter il faut utiliser un bactériophage très virulent agissant suffisamment vite pour empêcher les germes d'organiser la lutte et d'autre part se placer dans les conditions extérieures favorables à la vie du bactériophage plutôt qu'à celle de la bactérie (pH au voisinage de l'alcalinité, température de 32°).

Les produits résultant de la dissolution des microbes se comportent vis-à-vis de l'agent lytique comme un poison et il importe de les séparer si on ne veut pas voir le phénomène s'arrêter puis régresser par suite de la formation des colonies secondaires : lorsqu'on ensemence sur gélose inclinée le produit d'incubation d'une culture bactérienne et du bactériophage correspondant on n'obtient 24 heures après, aucune colonie visible, car les bactéries sont lysées dès leur naissance. Mais si on laisse le tube quelques jours à l'étuve on voit apparaître des colonies isolées sur la partie supérieure de la gélose, à l'endroit où elle est le plus mince — cela tient à ce que les produits biologiques résultant de l'action du bactériophage, ne pouvant diffuser dans une masse de gélose suffisante restent localisés à la surface; le bactériophage empoisonné n'exerce plus aucun effet sur les germes résiduels et ceux-ci guéris et vaccinés peuvent en toute liberté se reproduire et coloniser. L'action *in vivo* du bactériophage est en tout point comparable à ce qui se passe *in vitro*; d'Hérelle insiste sur le fait qu'on ne peut espérer d'effet thérapeutique d'un bactériophage qu'à la condition qu'*in vitro* il soit capable de lyser le germe prélevé sur le malade; un essai systématiquement pratiqué avant l'emploi d'un produit commercial éviterait de perdre du temps à appliquer une thérapeutique qui dans certains cas ne peut être efficace en raison de la résistance particulière de la bactérie en cause.

Par suite de la production d'antiphages il convient de ne pas pratiquer plus de 2 ou 3 injections car on rendrait l'organisme définitivement réfractaire à l'action du bactériophage; on doit veiller à la réaction du milieu intestinal lorsqu'on l'administre *per os* et pour plus de sûreté l'alcaliniser à l'aide de bicarbonate de soude.

De même qu'il y a plusieurs races d'un même germe, il existe de nombreuses races de bactériophages.

Un produit commercial pour être efficace doit être très polyvalent et très virulent, afin de pouvoir s'attaquer à plusieurs races de germes, rapidement, avant que les bactéries ne mettent en œuvre leurs moyens de défense.

Pour obtenir un bactériophage on ensemence en bouillon quelques gouttes d'un produit susceptible de le contenir telles que selles de dysentériques, de typhiques, eaux contaminées, etc.; 18 heures après on filtre à travers des bougies Chamberland; on peut utiliser des bougies à pores très serrés L5 par exemple qui retiennent une partie des protides, car ainsi que nous l'avons vu le bactériophage traverse les filtres de collodion; on obtient un liquide clair, limpide et stérile.

Il y aurait encore beaucoup à dire sur ce phénomène qui est certainement l'un des plus intéressants de la bactériologie moderne car il déborde du domaine scientifique pour entrer en partie dans le domaine philosophique; mais cela n'aurait qu'un rapport éloigné avec notre sujet; nous n'avons rappelé que l'indispensable pour la compréhension du mode opératoire suivi. Nous avons examiné 11 produits commerciaux au point de vue de la stérilité en aérobiose et anaérobiose, de l'authenticité et de l'efficacité, ces deux dernières recherches se confondant l'une avec l'autre. Nous n'avons pas recherché l'innocuité des produits étudiés, mais cet essai seraitintéressant à pratiquer sur l'animal, car la lyse des bactéries met en liberté leurs toxines et leurs protides protoplasmiques dont l'introduction dans l'organisme surtout par voie intra-veineuse n'est pas dépourvue de danger.

Essai de stérilité. — L'examen de la stérilité se pratique exactement comme pour les vaccins, en aérobiose et anaérobiose.

Nous avons trouvé un bactériophage (laboratoire A n° 7) non stérile souillé d'ailleurs non par un germe microbien mais des champignons.

Examinés au microscope, les flocons en suspension dans le liquide se montrent formés de filaments mycéliens ramifiés cloisonnés et bourrés de granulations.

Essai d'authenticité et d'efficacité. — L'essai d'authenticit; consiste à rechercher si le liquide examiné renferme bien du

bactériophage vivant et actif décelable par son pouvoir lysant vis-à-vis des germes homologues; le degré de virulence qu'il manifeste envers ces germes traduit son efficacité. On pourrait également pratiquer une numération des corpuscules bactériophages; nous avions songé à effectuer cette recherche mais l'expérience nous a montré ce qu'elle aurait d'arbitraire; d'autre part d'Hérelle souligne qu'il est préférable d'employer une suspension pauvre en corpuscules mais dont la virulence est très grande, qu'une suspension très riche de faible activité.

La numération des corpuscules bactériophages est semblable à la numération des bactéries d'une culture; elle peut se faire par deux procédés; l'un appelé méthode des dilutions limites consiste à diluer à des taux connus et régulièrement croissants la suspension bactériophage jusqu'à une limite où l'action lytique vis-à-vis d'une culture bactérienne homologue ne se manifeste plus — on admet alors que cette dilution ne contient plus aucun corpuscule bactériophage tandis que la dilution inférieure en contient au moins un — on en déduit connaissant le taux de cette dilution le nombre de corpuscules par centimètre cube.

L'autre procédé consiste à effectuer un comptage des plages sur gélose en boîte de Pétri. On fait une dilution connue du bactériophage dans une culture bactérienne; on ensemence sur gélose une quantité bien déterminée à l'aide d'une pipette donnant un nombre de gouttes connu par centimètre cube; on compte 24 heures après le nombre de plages dans lesquelles la gélose semble parfaitement nue; chaque plage représentant la colonisation d'un corpuscule bactériophage, on en déduit le nombre de corpuscules dans un centimètre cube de suspension.

Il apparaît, au premier coup d'œil, évident que cette numération n'a de valeur que pour une race bactérienne déterminée, elle est fonction de la virulence du bactériophage vis-à-vis de ce germe; pratiquée avec une souche différente elle donnera des résultats différents. Pour obtenir une valeur réelle il faudrait que le fabricant fournît la souche qui lui a servi à effectuer la numération des corpuscules de son filtrat bacté-

riophagique. La recherche du pouvoir lysant ne se heurte pas aux mêmes difficultés car un produit commercial devant être très polyvalent et très virulent pour avoir une réelle valeur thérapeutique, on peut l'éprouver avec n'importe quelle souche; nous devons ici faire remarquer qu'une seule expérience à l'aide d'une seule race bactérienne ne peut suffire pour juger un produit; certaines races sont naturellement réfractaires à l'action de l'agent lytique, un cas isolé n'a aucune valeur en bactériophagie; il est indispensable d'utiliser plusieurs souches du même germe avant de se faire une opinion sur la valeur thérapeutique du produit étudié : c'est pour cette raison que nous n'avons pas étudié de bactériophages dysentériques, bien que ce soit les plus intéressants parce que les plus virulents, car nous n'avons pas pu nous procurer plusieurs races de bacilles dysentériques; de même nous n'avons pas tenu compte des résultats, d'ailleurs défavorables aux laboratoires en jeu, obtenus avec des bactériophages typhiques, paratyphiques et pyocyaniques, les expériences n'ayant été faites qu'avec 1 ou 2 souches de ces germes ce qui est tout à fait insuffisant — nous n'avons examiné que divers coliphages et staphyphages que nous avons pu éprouver avec 8 souches de colibacilles et 4 souches de staphylocoques.

Mode opératoire

1° *Milieux et cultures utilisés.* — Nous avons utilisé des milieux de culture fortement alcalins (d'un p H voisin de 9) car les milieux neutres sont après culture, surtout pour le colibacille, nettement acides (pH égal à 5,5 pris à l'indicateur universel); dans ces conditions l'action du bactériophage est paralysée. En bouillon alcalin on obtient une culture abondante du colibacille en 2 heures et du staphylocoque en 18 heures.

La gélose utilisée est également alcaline, moins cependant que le bouillon, en raison probablement d'un équilibre

entre les acides aminés et la base qui tend à se produire au cours de la stérilisation. Nous l'employons en boîte de Pétri, coulée sur une épaisseur de 5 millimètres, pour faciliter la diffusion des produits résultant de l'action lytique du bactériophage. Après refroidissement de la boîte il faut changer aseptiquement le couvercle pour obtenir des images de cultures et de plages bien nettes.

2° *Régénération du bactériophage.* — L'activité du bactériophage dimiune avec le temps tout comme diminue la virulence d'une souche bactérienne conservée sur gélose et qui n'a pas subi de passage sur l'animal depuis son isolement.

Les premières expériences faites avec du bactériophage non régénéré ne nous ont donné aucun résultat constant. Au cours de la régénération, les quelques corpuscules encore virulents qui subsistent dans le liquide bactériophagique se multiplient au contact des bactéries et donnent naissance à de jeunes corpuscules aptes à exercer leur action lytique.

Cette opération consiste à porter à l'étuve à 32° pendant 3 heures un tube contenant 10 cm^3 d'une très jeune culture bactérienne et 2 cm^3 du bactériophage correspondant. Il convient de ne pas dépasser ce temps d'incubation afin d'éviter la production d'antiphages que se transmettraient héréditairement les bactéries.

On sépare ensuite le bactériophage par filtration à travers bougie ; pour éviter cette opération on peut repiquer une goutte du produit d'incubation en milieu neuf, c'est ce procédé que nous avons utilisé.

3° *Mise en évidence du pouvoir lytique.* — Ici deux cas peuvent se présenter :

a) Le bactériophage est très virulent ; sa vitesse de multiplication est supérieure à celle des bactéries, et l'action lytique est observable en bouillon.

b) Le bactériophage est moyennement ou peu virulent, les colonies secondaires se forment avant que l'on puisse remarquer l'éclaircissement du bouillon, et le phénomène passe

inaperçu. C'est pourquoi nous avons toujours commencé par examiner le pouvoir lytique en gélose.

Dans ces conditions la colonisation du bactériophage, qui a pour résultat l'apparition d'une plage claire au milieu d'une crème microbienne uniforme, est toujours vérifiable; n'y aurait-il qu'une seule plage, on peut affirmer que le produit contient du bactériophage. Il est bien entendu que cette méthode est valable pour des germes dont la culture en gélose est une crème uniforme, et ne vaudrait pas, pour le streptocoque par exemple qui pousse en colonies isolées.

Action lytique observée sur gélose. — A l'aide d'une pipette Pasteur, on verse quelques gouttes du produit d'incubation sur de la gélose coulée en boîte de Pétri, en veillant à ce que toute la surface soit humectée, car une partie non touchée pourrait être prise pour une plage de bactériophage. A jour frisant on vérifie si l'ensemencement a été uniforme. On place les boîtes de Pétri à l'étuve à 32° couvercle en dessous, gélose au-dessus, pendant 12 heures si on expérimente avec du colibacille; dans le cas d'un staphylocoque ou les laisse 24 heures.

On ensemence aussitôt après des tubes de gélose inclinée avec des cultures pures des germes précédemment employés; nous appellerons ces tubes, tubes P, nous verrons plus tard à quel usage ils sont destinés.

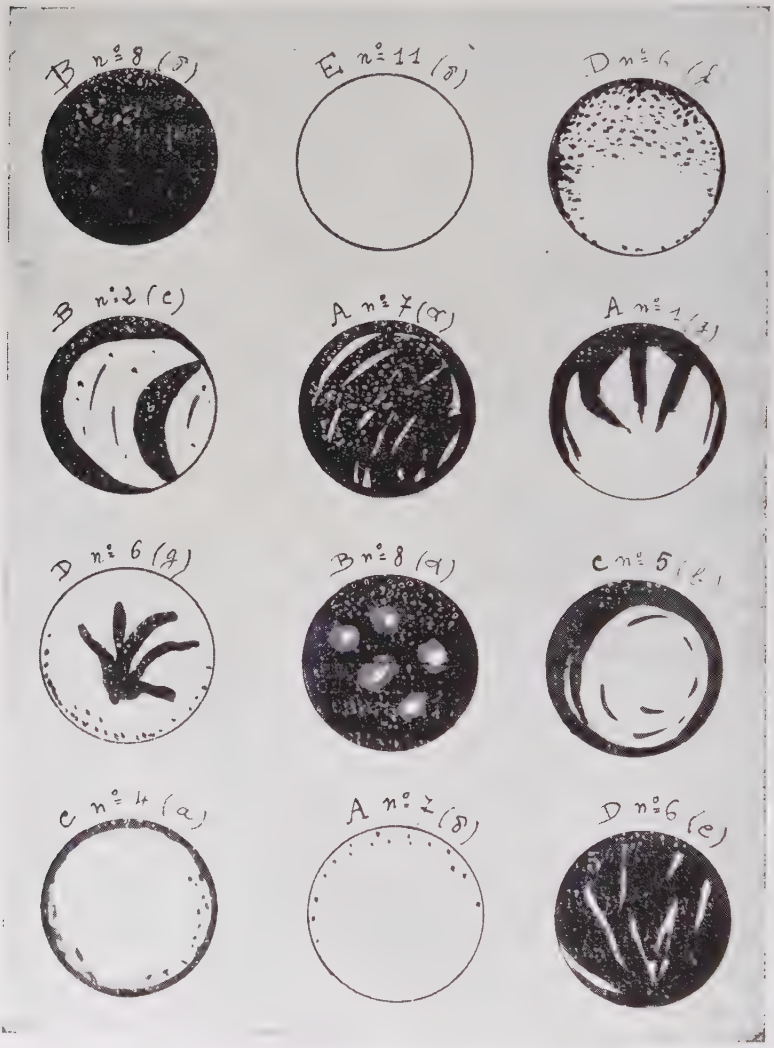
Lorsque 12 ou 24 heures après on examine les boîtes de Pétri, on se trouve, suivant le degré de virulence du germe, en présence de 3 cas.

1° Le bactériophage est très virulent. Aucune colonie n'est visible, la plage bactérienne occupe toute la surface de la gélose qui semble parfaitement nue.

2° Le bactériophage est moyennement virulent. On obtient une proportion variable de plages et de colonies qui traduit le degré de virulence du bactériophage. Nous avons remarqué par deux fois la formation d'auréoles irisées autour des plages décrites par d'Hérelle.

3° Le bactériophage est peu ou n'est pas virulent. On ne voit aucune plage bactérienne.

Ces résultats sont caractéristiques d'une race microbienne. Ils peuvent être diamétralement opposés si l'on expérimente avec une autre souche.



Dans cette planche nous avons représenté quelques-unes des figures obtenues au cours de nos expériences. Les parties

en noir indiquent les colonnes bactériennes; les parties blanches sont les plages de bactériophage.

Action lytique observée en bouillon. — Les tubes P vont servir à faire des émulsions microbiennes en bouillon d'un pH égal à 9.

On prépare deux émulsions d'égale intensité à partir de chaque race microbienne, l'une qui servira de témoin d'opacité et qu'on conserve à la glacière, l'autre qui doit subir l'action du bactériophage prélevé sur les boîtes de Pétri.

Avec l'anse de l'ensemenceur on racle les parties de la gélose qui sont recouvertes de corpuscules de bactériophages, sans toucher aux colonies bactériennes; on porte l'ensemenceur dans l'émulsion à lyser; on recommence plusieurs fois l'opération. On place le tube d'émulsion dans lequel on vient d'introduire du bactériophage à l'étuve à 32° pendant un temps variable; on examine toutes les 2 heures ce qui se passe.

Trois cas peuvent se présenter.

1° *Le bactériophage est très virulent.* — L'émulsion microbienne est complètement lysée, aucune bactérie n'est plus visible au microscope. Cette dissolution peut être très rapide. Nous l'avons obtenue une fois en 5 heures.

2° *Le bactériophage est moyennement virulent.* — L'action n'est pas totale; après un notable éclaircissement du bouillon, vérifiable par comparaison avec le tube témoin, la culture bactérienne repart, par suite de la formation de colonies secondaires.

3° *Le bactériophage est peu virulent.* — On ne peut obtenir la lyse en bouillon d'une émulsion de germes homologues. Ces expériences permettent de vérifier que l'absence totale de culture, ou les cultures partielles en gélose ne sont pas dues à une stérilisation du liquide d'incubation ensemencé par une

pipette trop chaude, ou à une mauvaise répartition de ce liquide sur la surface de la gélose, mais résultent de l'action spéciale exercée par le bactériophage.

Le passage par gélose permet en outre d'exalter la virulence d'un bactériophage sans faire de filtration et de déceler un faible pouvoir lytique non visible en bouillon.

Dans le tableau synoptique suivant nous donnons les résultats obtenus avec les divers produits commerciaux en désignant par une lettre le nom du laboratoire et par un numéro le nom du bactériophage examiné.

I. Produit contenant du coliphage seul ou associé à d'autres bactériophages.

Les expériences ont été faites deux fois pour chaque produit; elles ont donné sensiblement les mêmes résultats.

Nom du laboratoire	Nom du produit	Souches employées	Résultats en gélose	Résultats en bouillon
A	n° 1	coli a	Rares colonies bactériennes isolées.	Lyse presque complète en 12 h.
		— b	Très petites colonies isolées.	Lyse totale en 12 heures.
		— c	Colonies en nombre égal aux plages.	Pas de lyse.
		— d	Colonies couvrant presque totalement la gélose.	*id.*
		— e	Aucune plage n'est visible.	*id.*
		— f	Colonies très rares.	Lyse presque complète en 24 h.
		— g	Colonies à la périphérie.	Lyse faible.
		— h	Rares colonies isolées.	Lyse totale en 5 heures.
B	n° 2	— a	Rares colonies.	Lyse totale en 12 heures.
		— b	Rares colonies.	Lyse totale en 12 heures.
		— c	Colonies en nombre égal aux plages.	Pas de lyse.
		— d	Plages en nombre très restreint.	*id.*
		— e	Colonies en nombre égal aux plages.	*id.*
		— f	Plages en nombre très restreint.	*id.*
		— g	Plages en nombre très restreint.	*id.*
		— h	Plages en nombre restreint.	*id.*
—	n° 3	— a	Colonies en nombre supérieur aux plages.	*id.*
		— b	Colonies en nombre supérieur aux plages.	*id.*
		— c	Colonies en nombre supérieur aux plages.	*id.*
		— d	Colonies en nombre supérieur aux plages.	*id.*
		— e	Plages en nombre restreint.	*id.*
		— f	Aucune plage de bactériophage.	*id.*
		— g	Aucune plage de bactériophage.	*id.*
		— h	Aucune plage de bactériophage.	*id.*

Nom du laboratoire	Nom du produit	Souches employées	Résultats en gélose	Résultats en bouillon
C	n° 4	coli a	Rares colonies.	Lyse presque totale en 12 h.
		— b	Colonies en nombre supérieur aux plages.	Pas de lyse.
		— c	Aucune plage de bactériophage.	*id.*
		— d	Aucune plage de bactériophage.	*id.*
		— e	Aucune plage de bactériophage.	*id.*
		— f	Colonies en nombre égal aux plages.	*id.*
		— g	Colonies rares et isolées.	*id.*
		— h	Rares plages de bactériophage.	*id.*
—	n° 5	— a	Rares colonies.	*id.*
		— b	Nombre égal de colonies et plages de bactériophages.	*id.*
		— c	Rares colonies isolées.	Lyse presque complète en 12 h.
		— d	Rares plages de bactériophage.	Pas de lyse.
		— e	Colonies en nombre supérieur aux plages.	*id.*
		— f	Rares colonies.	*id.*
		— g	Rares colonies.	*id.*
		— h	Très rares plages de bactériophages.	*id.*
D	n° 6	— a	Rares colonies.	*id.*
		— b	Rares colonies.	*id.*
		— c	Aucune plage de bactériophage.	*id.*
		— d	Rares plages de bactériophages.	*id.*
		— e	Rares plages de bactériophages.	*id.*
		— f	Colonies en nombre égal aux plages de bactériophages.	*id.*
		— g	Colonies en nombre inférieur aux plages de bactériophages.	*id.*
		— h	Rares plages de bactériophages.	*id.*

II. Produits contenant du staphyphage seul ou associé à d'autres bactériophages.

Nom du laboratoire	Nom du produit	Souches employées	Résultats en gélose	Résultats en bouillon
A	n° 7	Staphylo blanc Cl	Très rares plages de bactériophages.	Pas de lyse.
		Staphylo blanc Dn	Aucune plage de bactériophages.	*id.*
		Staphylo doré Mr	Très rares plages de bactériophages.	*id.*
		Staphylo doré Cr	Très rares colonies.	Lyse complète en 24 heures.
B	n° 8	Staphylo blanc Cl	Très rares plages de bactériophages.	Pas de lyse.
		Staphylo blanc Dn	Très rares plages de bactériophages.	*id.*
		Staphylo doré Mr	Très rares plages de bactériophages.	*id.*
		Staphylo doré Cr	Très rares plages de bactériophages.	*id.*
—	n° 9	Staphylo blanc Cl	Très rares plages de bactériophages.	*id.*
		Staphylo blanc Dn	Très rares plages de bactériophages.	*id.*
		Staphylo doré Mr	Très rares plages de bactériophages.	*id.*
		Staphylo doré Cr	Très rares plages de bactériophages.	*id.*
C	n° 10	Staphylo blanc Cl	Rares plages de bactériophages.	*id.*
		Staphylo blanc Dn	Rares plages de bactériophages.	*id.*
		Staphylo doré Mr	Rares plages de bactériophages.	*id.*
		doré Cr	Rares colonies bactériennes.	Lyse totale en 24 heures.
D	n° 6	Staphylo blanc Cl	Très rares plages de bactériophages.	Pas de lyse.
		Staphylo blanc Dn	Très rares plages de bactériophages.	*id.*
		Staphylo doré Mr	Très rares plages de bactériophages.	*id.*
		Staphylo doré Cr	Très rares plages de bactériophages.	*id.*
F	n° 11	Staphylo blanc Cl	Rares plages de bactériophages.	*id.*
		Staphylo blanc Dn	Rares plages de bactériophages.	*id.*
		Staphylo doré Mr	Rares plages de bactériophages.	*id.*
		Staphylo doré Cr	Aucune colonie bactérienne.	Lyse totale en 5 jours.

Résultats. — L'examen des résultats obtenus sur gélose montre que les produits du commerce contiennent bien du bactériophage. Les résultats obtenus en bouillon indiquent leur polyvalence et leur virulence.

Nous avons observé 9 lyses totales ou partielles, en bouillon, sur 48 expériences faites avec 6 produits commerciaux et 8 souches différentes de colibacilles. et 4 lyses en bouillon sur 24 expériences faites avec 6 bactériophages différents et 4 souches de staphylocoques. soit un pourcentage total de 13 lyses en bouillon obtenues sur 72 expériences.

Le coliphage A se montre nettement le plus virulent et le plus polyvalent.

Sur les 8 souches de colibacilles employées, une se montre résistante envers tous les produits essayés, une autre lysée en 5 heures par le coliphage A est assez réfractaire à l'action des autres spécialités.

Sur 4 souches de staphylocoques une seule le staphylocoque doré Gr est lysé en bouillon par 4 bactériophages différents.

Conclusions. — 1° Ces résultats montrent qu'au point de vue de l'application thérapeutique des bactériophages, un essai préalable *in vitro* d'un produit avec le germe isolé du malade permettrait de distinguer quelle est la spécialité qui convient le mieux et s'il y a intérêt à utiliser la bactériophagie.

2° Un contrôle régulier des bactériophages commerciaux serait d'une grande utilité car un certain scepticisme commence à se manifester quant à leur efficacité; on a beaucoup attendu de la découverte d'Hérelle; si les excellents résultats parfois signalés, ne sont pas plus nombreux, cela tient au manque de polyvalence et de virulence des produi s livrés dans le commerce.

On pourrait, pour tenir compte de la résistance de certaines souches, établir un pourcentage minima de résultats positifs nécessaire, pour que la vente du produit soit autorisée; des prélèvements fréquents permettraient de vérifier si les qualités requises au moment de la demande d'autorisation, se retrouvent dans les produits vendus dans le commerce.

CHAPITRE VI

EXTRAIT DES LEGISLATIONS ETRANGERES CONCERNANT LA FABRICATION ET LA VENTE DES VACCINS

Ainsi que l'avaient signalé MM. Petit, Coldenberg et Panisset, le problème du contrôle des produits d'origine microbienne apparaît très complexe, mais non insoluble. Nous avons examiné les mesures prises par certaines législations étrangères pour le résoudre du moins en partie et donner au public le maximum de sécurité possible.

Décret royal du 10 *octobre* 1919 *relatif à la fabrication et à la vente des sérums et vaccins en Espagne*

Article I. — Il ne pourra se fabriquer, virus, vaccins, toxines, sérums et produits similaires pour la prophylaxie, diagnostic et traitement des maladies sans être muni au préalable de l'autorisation de l'Inspection générale de santé.

Article II. — La dite autorisation sera demandée par le directeur du laboratoire producteur, indiquant le produit ou les produits qu'il se propose de fabriquer et les bases scientifiques de leur préparation; l'instance sera accompagnée d'un mémoire descriptif et plans du laboratoire, la forme dans laquelle doivent être mis en vente les dites préparations, les moyens de conservation, la dose, les caractéristiques de l'activité des différents produits, et finalement la durée maxima de celle-ci.

Article III. — Pour les produits nouveaux, on devra indiquer dans la demande, en plus des indications consignées dans l'article précédent, quelles sont selon l'opinion dë l'auteur, les propriétés de la préparation qui justifient son emploi pour la prévention, la guérison, ou le diagnostic de la maladie déterminée.

Article IV. — Pour que l'autorisation soit accordée, il sera nécessaire :

a) que la direction technique soit confiée à un médecin, à un pharmacien, ou à un vétérinaire de compétence reconnue.

b) que le personnel soit suffisant et sain, le tenant séparé du laboratoire pendant que dureront leur maladie ou celle de leur famille si elle est de caractère contagieux.

c) que les animaux employés réunissent les conditions nécessaires générales de santé pour l'usage auquel ils doivent être destinés sous, la vigilance d'un vétérinaire.

d) qu'il y ait des locaux appropriés munis d'appareils et outils pour la fabrication et conservation des produits.

Article V. — Avant d'accorder l'autorisation, l'inspection générale de santé ordonnera qu'il soit fait une visite d'inspection par un délégué spécial, par elle désigné, qui informera sur l'accomplissement des conditions signalées dans les articles précédents et sur tout ce qui peut être intéressant pour concéder l'autorisation.

Article VI. — Une fois ces formalités accomplies, l'inspection de santé accordera l'autorisation sollicitée dans le plus bref délai possible. Cette autorisation sera valable tant que les inspections réalisées dans l'avenir par le délégué spécial, ne révéleront pas d'altération, ou l'inaccomplissement des clauses contenues dans l'autorisation accordée.

Article VII. — Si au moment où l'autorisation est accordée le producteur changeait quelques-unes des conditions signalées, il lui faudrait alors obtenir une autre autorisation comme s'il s'agissait d'un produit nouveau.

Les articles VIII et IX ont trait à l'importation.

Article X— L'Etat surveillera constamment la pureté et l'efficacité des produits se référant au présent règlement. A cette fin il sera créé un bureau technique de vérification, dépendant de la dite inspection générale, avec le personnel technique nommé par concours.

Article XI. — L'inspection générale consultant les laboratoires et corporations scientifiques qu'elle jugera convenable, signalera dans le plus bref délai le cadre des conditions auquel doit être soumis chaque produit, durée maxima de son activité, et quantité nécessaire pour le contrôle.

Article XII. — Quand l'inspection générale le jugera opportun elle fera prendre par ses délégués spéciaux des échantillons des produits dans un laboratoire, ou se procurera les quantités marquées pour chaque produit par le bureau technique de contrôle dans les dépôts de

vente, et en tout cas ils devront être remis pour leur essai avec toutes les garanties nécessaires au dit bureau, ce dernier devra dans le plus bref délai possible informer spécialement l'inspection sur l'activité des produits d'accord avec les moyens de mesures adoptés.

Article XIII. — Si de l'étude vérifiée par le bureau de contrôle il ressort l'inaccomplissement de quelques-unes des conditions auxquelles doivent se soumettre la fabrication et la vente dans des proportions non nuisibles à la santé publique, il sera donné connaissance du fait au laboratoire correspondant en l'avertissant que si la faute se réitère dans les produits qui sortiront à partir de la date de communication, il sera estimé récidiviste, et le lot inutilisé.

Article XIV. — Si les fautes observées dans le produit élaboré peuvent constituer un danger pour la santé publique, tant par son inactivité, comme pour renfermer quelque principe nocif, l'autorisation correspondante au produit dénoncé sera annulée et il sera ordonné une prompte saisie de tous les produits du lot examiné, et de ceux, antérieurs ou postérieurs qui existent sur le marché proveont du même laboratoire, exigeant les responsabilités à qui de droit.

Article XV. — Tout laboratoire auquel pour une cause ou pour une autre auront été retirées les autorisations ne pourra reprendre la fabrication sans demander une nouvelle autorisation en prouvant qu'il a réparé les fautes commises antérieurement, et en s'engageant à ne pas mettre en vente aucun produit fabriqué, sans qu'au préalable il obtienne l'approbation du bureau technique de contrôle.

Article XVI. — La récidivité portera avec elle l'annulation temporaire dans les fautes de peu d'importance et l'annulation définitive des autorisations dans les fautes graves; dans le cas où les préparations ne se conformeraient pas aux dispositions prises par l'inspection générale de santé, il aura le droit après s'être fait entendre dans l'instance de se pourvoir devant le Ministère de l'Intérieur.

Article XVII. — L'enveloppe extérieure de toute préparation devraporter obligatoirement, la quantité contenue, la date de sa fabri cation, sa durée maxima.

Ordonnance royale du 5 novembre 1920.

Article II. — Les inspecteurs pharmaciens des douanes surveilleront l'introduction des sérums et vaccins des laboratoires étrangers, prohibant l'entrée en territoire espagnol des produits non autorisés par l'inspection générale de santé.

Article III. — Les inspecteurs provinciaux d'eux-mêmes feront

une visite tous les ans aux laboratoires producteurs de sérums vaccins, situés dans leur province pour contrôler si ces derniers sont autorisés et s'ils accomplissent les prescriptions du règlement mentionné.

Article IV. — Les sous-délégués de pharmacie veilleront à ce que les sérums et vaccins existants à la vente soient de laboratoires autorisés, et que ces préparations soient conformes aux conditions exigées par les articles 18 et 19 du réglement sus-mentionné.

Lois et décrets du 31 mai 1927 réglementant la fabrication et la vente des sérums et vaccins en Angleterre.

Partie I.

Cette partie traite de la terminologie :
Le licencié est le fabricant ayant obtenu une licence d'exploitation.
L'autorité est le Ministère de l'hygiène et de la santé publique.

Partie II.

1° Le fabricant désirant obtenir une licence d'exploitation pour fabriquer et vendre des vaccins devra avoir un personnel, des locaux adéquats, et un matériel propre à accomplir les épreuves de qualité, pureté, teneur en substances utiles; il devra avoir un local convenable pour les animaux utilisés dans les épreuves ou s associer avec quelque institution officielle pour que de telles épreuves soient faites.

2° *Il devra garder des rapports permanents sur les détails de fabrication de chaque lot de la substance qui est mise en vente et de l application des essais auxquels on pourra se rapporter aisément par le numéro du lot inscrit sur l'étiquette.*

3° *Le licencié devra permettre à tout inspecteur autorisé par l'autorité d'entrer avec ou sans avis préalable, dans tous les locaux de fabrication et d'inspecter les lieux et le matériel, le mode de fabrication, les moyens employés pour « standardiser » et essayer la substance et prélever des échantillons.*

4° Le licencié devra de temps en temps rendre compte à l'autorité de tous les changements apportés dans le personnel responsable de la fabrication ou de l'épreuve de la substance, et des changements dans le matériel ou les locaux.

5° *Le licencié devra de temps en temps sur demande fournir à l'autorité, un échantillon d'un lot spécifié par l'autorité en quantité jugée par elle suffisante pour l'examen.*

6° *Si à n'importe quel moment l'autorité est assurée que le licencié a contrevenu ou a manqué de remplir quelque condition de la licence ou un réglement de la loi, mais que ce manquement ne justifie pas la révocation ou la suspension de la licence, l'autorité peut lui imposer la condition, pour continuer ou renouveler la licence, que le licencié soumettra un échantillon de chaque lot de la substance et ne devra vendre ou mettre en vente un lot, avant qu'un certificat autorisant la vente du lot soit donné par l'autorité.*

Partie III.

Dispositions relatives à l'appellation des substances thérapeutiques, aux contenants, étiquettes, etc...

Chaque contenant d'une substance thérapeutique doit porter une étiquette sur laquelle sont peintes ou écrites en encre indélébile les particularités suivantes :

a) le nom propre de la substance,
b) le nom et l'adresse du fabricant,
c) le numéro de la licence du produit,
d) un numéro du lot distinctif,
e) la date de préparation,
f) lorsque le produit est titré, le titre en unités officielles,
g) lorsqu'un essai pour la toxicité maximum est requis, une mention que la substance a bien subi l'essai,
h) lorsqu'un essai pour l'efficacité minima ou la toxicité maxima est requis, la date jusqu'à laquelle la substance, si elle est gardée dans des conditions convenables, peut garder une efficacité pas moindre que celle requise par l'essai, ou ne peut acquérir une toxicité plus grande que celle permise à l'essai,
i) là ou une substance antiseptique a été ajoutée, la nature et le pourcentage introduit,
j) précautions nécessaires pour préserver les propriétés du contenu jusqu'à la date indiquée.

Nota : Au sujet du paragraphe relatif à la date de préparation la date à laquelle la fabrication du lot est achevée doit être :

1° au cas où un essai pour l'efficacité ou la toxicité est requis par ces réglements,la date à laquelle l'essai est achevé ou la date à laquelle la substance a été éloignée d'un emmagasinage froid où elle a été gardée à une température inférieure à 5° continuellement depuis le dernier essai,

2° au cas où un tel essai n'est pas requis par ces règlements mais un essai pour l'efficacité et la toxicité est accepté par l'autorité comme étant suffisant, la date de l'achèvement de la préparation, la date à laquelle l'essai est achevé.

Partie IV.

Relative aux étalons d'efficacité, qualité et pureté et essais pour déterminer si ces étalons ont été atteints.

Chaque substance thérapeutique proposée pour la vente devra être conforme aux étalons d'efficacité, qualité et pureté spécifiés à l'annexe.

Les essais suivants sur la présence de bactéries vivantes, aérobies et anaérobies, devront être faits par le fabricant ou quelque institution approuvée dans les cas de :

a) sérums,
b) vaccins bactériens,
c) insuline etc...

Les essais seront appliqués :

a) aux échantillons pris à chaque lot de la substance avant que l'opération de remplissage et la fermeture des flacons dans lesquels elle est vendue ne soit effectuée.

b) sur le produit tout prêt pour la vente.

a) Les essais doivent être faits en milieu liquide; la quantité de liquide contenu dans le tube doit être telle qu'un antiseptique phénolique présent soit au moins dilué à 0.01 %

b) Pour l'essai en aérobie le milieu est de l'extrait de viande avec 1 % de peptone et d'un pH. compris entre 7,2 et 7,8.

Si à cet examen aucune culture n'est visible le tube peut être considéré comme stérile.

Si une culture de germes est visible d'autres échantillons peuvent être pris et les essais peuvent être répétés sur d'autres tubes ainsi pris: mais aucun flacon dont le contenu forme un lot ne sera vendu, jusqu'à ce que ces échantillons aient été essayés. Le prélèvement des échantillons d'un lot pour l'essai, peut si nécessaire être fait deux fois. Si le même germe est visible dans plus d'un essai, le lot sera traité comme non stérile et aucun échantillon ne pourra être vendu ou utilisé à moins qu'il n'ait été stérilisé à nouveau, et n'ait subi d'autres essais.

Partie V.

Relative au nom du vaccin et au libellé de l'étiquette.

1° Le nom du vaccin sera le nom des micro-organismes entrant ans sa composition.

2° L'étiquette mentionnera :

a) le nombre de bactéries par centimètre cube,

b) ou le poids de ces bactéries contenues dans I centimètre cube.

c) *ou le nombre ou le poids des bactéries qui ont servi à la préparation de* 1 *centimètre cube du produit final.*

Bulletin des lois et circulaires concernant l'organisation médicale en Suède.

Décret royal du 30 avril 1925 concernant le contrôle de certaines préparations bactériologiques et leur commerce.

Les sérums, vaccins et autres préparations bactériologiques de ce genre qui peuvent être utilisés pour les hommes pour le diagnostic, la prophylaxie ou la thérapeutique, doivent être soumis au contrôle selon les dispositions prévues — ce contrôle est pratiqué par le contrôleur du Laboratoire bactériologique de l'Etat d'après des indications spéciales. Le conseil médical vérifie la stérilité, le contenu maximum d'antiseptique autorisé, le contenu déclaré de microbes par approximation à l'aide de tests.

Les vaccins doivent porter la date de leur préparation. Ils sont retirés de la circulation après deux ans.

Lois du 15 juillet 1929 sur la fabrication et la vente des vaccins et sérums en Allemagne.

Sur beaucoup de points les règlements allemands se rapprochent de ceux en usage en Grande-Bretagne. Sur quelques détails ils en diffèrent :

La surveillance de l'Etat s'exercera sur les établissements produisant des sérums ou vaccins et sur les dépôts de vaccins par l'intermédiaire du médecin de la ville ou de l'arrondissement.

L'autorisation de fabriquer des substances d'origine microbienne ne sera donnée que si le demandeur possède des locaux appropriés, grands, frais et faciles à surveiller; l'avis d'un médecin est requis pour accorder la permission demandée. Elle est donnée par le ministre de la Santé s'il s'agit de produits destinés à la thérapeutique de l'homme et par le ministre de l'Agriculture s'ils concernent les animaux; elle n'est accordée qu'à des personnes compétentes.

Les personnes désirant avoir la charge d'un dépôt de vaccins doivent en faire la demande à la police.

Tous les produits qui doivent être soumis au contrôle de l'Etat sont à déposer par le fabricant dans un local spécialement aménagé et fermé à clef.

Après un second contrôle si les produits autorisés sont reconnus inférieurs à ce qu'ils étaient primitivement l'inspecteur retire l'autorisation et les raisons de cette sanction sont notées sur un registre spécial.

Règlements pour la vente des virus, sérums et toxines pour le district de Colombia (1923).

1° La licence d'exploitation dans le district de Colombia (Etats-Unis d'Amérique) est obtenue après inspection des établissements et des produits.

2° Les inspecteurs sont des officiers du service de Santé; leurs visites seront faites sans avis préalable à moins que pour une raison spéciale ils estiment devoir prévenir le fabricant à l'avance.

3° Ils inspecteront tous les locaux et vérifieront les registres sur lesquels le fabricant est tenu de consigner le mode de préparation des produits, les expériences faites pour déterminer l'efficacité, la toxicité, etc... Ils pourront interroger le personnel. Ils étudieront minutieusement les détails de fabrication et de vente. Ils devront examiner tout ce qui peut nuire à l'efficacité ou à la pureté des produits.

4° Lorsque le produit n'est pas conforme une nouvelle inspection n'aura lieu que si le fabricant donne l'assurance qu'il a rectifié ce qui était défectueux.

5° Si les conditions de préparation sont défectueuses, les causes de la suspenion ou de la révocation de la licence seront publiées par le secrétaire du Trésor.

Tout ce qui a trait aux détails de conservation, au libellé des étiquettes, aux essais de toxicité et d'efficacité est identique à ce qui est exigé en Angleterre.

En résumé. — La législation espagnole prévoit par les articles VI, VII, X, XII, XIII, XIV, XV, XVI du décret royal du 10 août 1919 :

1° une surveillance permanente et fréquente des produits fabriqés par les divers laboratoires, pour vérifier s'ils conservent les qualités de pureté et d'efficacité des produits fournis à l'expert au moment de la demande d'autorisation.

2° La création d'un laboratoire spécialement outillé pour effectuer l'examen des échantillons prélevés.

3° une surveillance des établissements pour vérifier s'ils sont en accord avec les règlements concernant le personnel, les animaux de laboratoire. les locaux.

La législation anglaise par les articles II, III, IV, de la partie II de la loi du 31 mai 1927, prévoit :

1° La surveillance permanente des produits vendus dans le commerce;

2° Celle des établissements, lesquels pourront être visités par un inspecteur, sans avis préalable. L'inspecteur pourra prélever des échantillons de n'importe quel lot.

Et par les articles IX de la partie IV :

3° L'obligation pour le fabricant de tenir un registre où seront mentionnées toutes les expériences faites par lui, au sujet de : la toxicité, de l'efficacité, de la stérilité, de la conservation des produits lesquels porteront sur l'étiquette un numéro d'ordre se rapportant à ces essais.

4° Le contrôle par un laboratoire spécial de ces essais;

5° Une exacte déclaration du contenu des ampoules, de la présence d'un antiseptique.

La législation suédoise, par le décret royal du 30 avril 1925, oblige le fabricant :

1° A retirer de la circulation tout produit dont la date de préparation remonte à deux ans (cette date doit être notée sur l'étiquette);

2° A déclarer la nature et la quantité de l'antiseptique ajouté;

3° A envoyer des échantillons au laboratoireofficiel spécialement chargé du contrôle des produits bactériologiques en vue d'examiner la stérilité et le taux des germes contenus dans les ampoules (la numération des germes est faite à l'aide de tests).

Les législations allemande et américaine ont ceci de particulier qu'elles confient le contrôle des produits d'origine microbienne à des inpecteurs du service de santé ou à des médecins.

CONCLUSIONS

I. Sur 120 vaccins microbiens examinés au point de vue de la stérilité et de la nature des germes contenus dans les flacons, nous avons trouvé :

7 vaccins non stériles ;

7 vaccins contenant des germes étrangers à ceux annoncés sur l'étiquette ;

et 15 vaccins totalement ou partiellement autolysés ;

soit un total de 29 produits ne présentant pas les caractères des vaccins bien préparés.

D'autre part nous avons trouvé 64 vaccins dont les étiquettes ne donnent pas d'indication au sujet de la limite d'utilisation, ~~mais~~ malgré l'article II de la loi du 25 avril 1895.

II. Les essais de stérilité et d'authenticité des 28 antivirus commerciaux nous ont donné les résultats suivants :

Aucun de ces produits n'était souillé ;

21 d'entre eux ne présentèrent pas le caractère biologique spécifique signalé par Besredka, à savoir le pouvoir empêchant *in vitro*. Il faut cependant faire remarquer que le moyen de contrôle choisi n'est peut-être pas un critérium de premier ordre.

Sur 14 pommades à base d'antivirus examinées, 5 se montrèrent souillées soit par du *Bacillus subtilis* soit par un entérocoque.

L'essai d'authenticité n'a été pratiqué que sur les 9 pommades stériles :

5 d'entre elles contenant du bactériophage ou un antiseptique n'ont permis la culture d'aucune des souches ensemencées.

Les 4 autres ont donné, après ensemencement des germes correspondants, des cultures d'intensité variable.

La remarque faite pour les antivirus liquides, au sujet de leur pouvoir empêchant *in vitro,* est applicable aux pommades à base d'antivirus.

III. Enfin nous avons étudié 11 bactériophages commerciaux au point de vue de leur stérilité, de leur authenticité et de leur efficacité.

Un d'entre eux n'était pas stérile.

Dans tous les échantillons nous avons pu mettre en évidence du bactériophage. Mais un seul (coliphage A, n° 1) était assez virulent et polyvalent pour qu'on puisse en attendre de bons résultats thérapeutiques.

IV. Ce travail bien qu'incomplet montre cependant :

La nécessité d'exercer sur les produits d'origine microbienne, un contrôle fréquent et inopiné visant la stérilité, l'authenticité, l'inocuité et l'efficacité des produits vendus dans le commerce, d'autant plus que ce sont toujours les mêmes maisons qui sont déficientes.

Les modifications apportées à la loi du 25 avril 1895 dans le but de l'adapter aux exigences de la bactériologie sont encore insuffisantes pour garantir comme il convient la valeur des vaccins, antivirus et bactériophages.

Seul un laboratoire officiel chargé spécialement du contrôle demandé pourrait agir efficacement, parce que ce contrôle s'exercerait d'une façon permanente et que le la-

boratoire serait outillé en vue de ce genre d'expertise. Le fonctionnement de ce dernier ne ferait que renforcer le crédit des établissements sérieux en permettant de retirer du commerce des produits dangereux parce qu'ils sont systématiquement mal préparés et jettent le discrédit sur toutes les substances similaires.

Vu :
Le Doyen,
Pierre MAURIAC

Vu, bon à imprimer :
Le Président,
E. ALBERTIN.

Vu et permis d'imprimer :
Bordeaux, le 12 décembre **1934.**
Le Recteur de l'Académie,
A. TERRACHER.

BIBLIOGRAPHIE

Angelo (Irène). — « Sensibilité comparée de trente-deux souches de colibacilles urinaires à la sérothérapie et à la bactériophagie spécifiques », *Bulletin de l'Académie de médecine* 1930, t. CIV, p. 750.

Barbero. — « Rapport à la Chambre des Députés », *Journal officiel* du 28 juin 1933, Documents parlementaires (Chambre) Annexe n° 2157.

Bazy (Louis). — « Essai d'interprétation du mécanisme de la vaccinothérapie », *Bulletin de l'Acad. de méd.*, 1928, t. C, p. 1223.

Bertarelli (E.). — « Ueber Antivirus », *Annals Tomarkin Foundation*, avril 1931.

Besredka. — « De l'immunité locale », *Bulletin de l'Institut Pasteur*, 1924, t. XXII, p. 217 et 265.

— « Rôle de la peau dans l'immunité naturelle, au cours des infections, et dans l'immunité acquise », *Bull. de l'Inst. Pasteur*, 1925, t. XXIII, p. 873.

— « Caractères des antivirus », *Bull. de l'Inst. Pasteur*, 1930, t. XXVIII, p. 49 et p. 105.

— « Injection et immunisation par voie buccale contre la dysenterie et les états typhoïdiques », *Bull. de l'Inst. Pasteur*, 1920, t. XVIII, p. 121.

— « De l'immunité générale par immunisation locale », *Bull. de l'Inst. Pasteur*, 1922, t. XX, p. 473 et p. 513.

— *Antivirusthérapie*, 1930, p. 6 à 10, Masson, éditeur.

Besson. — *Technique microbiologique et sérothérapique*, 1930, Baillière, éditeur.

Blanc (G.) et **Caminopetros** (J.). — « De l'importance du phénomène de déplacement dans l'action thérapeutique des vaccins microbiens », *Mémoires de la société de biologie*, 1929, t. CI, p. III.

Bordet (J.). — « Apparition spontanée du pouvoir lysogène dans les cultures pures », *Mém. de la soc. de biologie*, 1924, t. XC, p. 96.

— « La théorie de l'autolyse transmissible et les objections de d'Hérelle », *Mém. de la soc. de biologie*, 1925, t. XCIII, p. 1432.

Caublot (P.). — *Technique des manipulations et contribution à l'étude du bactériophage de d'Hérelle*, thèse de médecine, Paris, 1923.

Cazeneuve (P.). — « Y a-t-il nécessité de réviser la loi du 25 avril 1895 sur la préparation, la vente et la distribution des sérums thérapeutiques et autres produits analogues », *Bulletin de l'Acad. de méd.*, 1925, t. XCIII, p. 115.

— « Sur le contrôle officiel des agents thérapeutiques et son organisation officielle », *Bull. de l'Acad. de méd.*, 1926, t. XCV, p. 530.

Chaillot (L.). — « Etude *in vitro* sur l'antivirus staphylococcique », *Mém. de la Soc. de Biolog.*, 1930, t. CIII, p. 122 et p. 206.

Costa Cruz (da). — « La lyse par le bactériophage », *Mém. de la Soc. brésilienne de biol.*, sept. 1926.

Dalsace (R.). — *Le bactériophage de d'Hérelle; ses applications en thérapeutique urinaire*, thèse de méd. Paris, 1925.

D'Hérelle. — *Le bactériophage et son comportement*, Masson édit., 1926.

— « La bactériophagie en hyperaérobiose », *Mém. de la Soc. de Biol.*, 1927, t. XCVI, p. 453.

— « La théorie de l'autolyse microbienne transmissible de Bordet et Ciuca », *Mém. de la Soc. de Biol.*, 1925, p. 1206.

D'Hérelle et **Hauduroy**. — « Sur les caractères des symbioses bactériophages », *Mém. de la Soc. de Biol.*, 1925, t. XCIII, p. 1288.

— « Autonomie du bactériophage », *Mém. de la Soc. de Biol.*, 1924, t. XC, p. 25.

— « Elimination du bactériophage dans les symbioses bactériophages », *Mém. de la Soc. de Biologie*, t. CIV, p. 1254.

— « Les défenses de l'organisme », *Bull. de l'Inst. Pasteur*, 1924, t. XXII, p. 553.

Dopter et **Sacquepée**. — *Précis de bactériologie*, Paris, Baillière, 1930.

Duchon (L.). — *Les broncho-pneumonies infantiles et leur traitement par les lysats-vaccins*, thèse de méd., Paris, 1926.

Givago (N. A.). — « Immunité locale et vaccination locale d'après Besredka », *Bull. de l'Inst. Pasteur*, 1928, t. XXV.

Goldenberg (C.) et **Panisset** (L.). — « A propos des altérations des vaccins microbiens », *Mém. de la Soc. de Biolog.*, 1925, t. XCII, p. 411.

Goldie (H.) et **Veinberg**. — « Filtrats bactériens *in vivo* et *in vitro* », *Mém. de la Soc. de Biol.*, 1932, t. CX, p. 893.

Golse (J.). — « Médicaments et thérapeutiques modernes », *Bulletin des travaux de la Société de Pharmacie de Bordeaux*, 1934, fascicule III.

Gonzartchik-Glarner (Mme). — « Etude *in vitro* des antivirus », *Mém. de la Soc. de Biol.*, 1929, t. CII, p. 912.

Gratia (A.) et **Doyle** (D.). — « Phagocytose et immunité de dépression» *Mém. de la Soc. de Biol.*, 1926, t. XCIV, p. 1265.

Gratia (A.). — « L'action lytique des staphylocoques vivants sur les staphylocoques tués », *Mém. de la Soc. de Biol.*, 1926, t. XCV, p. 734.

— « Phénomène de Twort et bactériophagie », *Mém. de la Soc. de Biol.*, 1930, t. CV, p. 219.
— « Mise au point de quelques notions de bactériophagie », *Bruxelles médical*, 1931.
Grenet et **Isaac** (P.). — « Sur le bactériophage », *Presse médicale*, 29 août 1928.
Hadley (P.). — « The Twort d'Hérelle phenomenon », *Bull. de l'Inst. Pasteur*, 1920, t. XXVII, p. 804.
Hauduroy (P.). — « Les formes filtrantes des bactéries et les ultravirus », *Mém. de la Soc. de Biol.*, 1926, t. XCV, p. 1523.
Jansion (H.) et **Diot** (E.). — « Les pansements locaux à la gélose vaccinée », *Mém. de la Soc. de Biol.*, 1925, t. XCII, p. 1495.
Klukhine (E.). — « De l'immunité locale et de son mécanisme », *Mém. de la Soc. de Biol.*, 1927, t. XCII, p. 35.
Laval (P.). — « Contribution à l'étude *in vitro* des antivirus », *Mém. de la Soc. de Biol.*, 7-8 janv. 1928, t. XCVIII, p. 7.
Lavergne. — « Rapport présenté au Sénat, séance du 17 mai 1934 », *Journal officiel*, annexe n° 290, Documents parlementaires (Sénat).
Lejars, Bezançon, Brocq, Duchon. — « De l'influence des « lyses microbiennes » dans la vaccinothérapie de certaines infections médico-chirurgicales à streptocoques et à staphylocoques », *Bull. de l'Acad. de Méd.*, 1930, t. CIII, p. 621.
Le Sourdier (Mlle) et **Verge** (J.). — *Mém. de la Soc. de Biol.*, 1931, t. CVI, p. 783.
Levinson (L.). — *Contribution à l'étude du bactériophage*, thèse de méd. Paris, 1922.
Maheu (J.). — *Essai bactériologique et chimique des préparations pharmaceutiques dites : ferments lactiques*, thèse de Méd. Paris, 1920-1921.
Marmier (L.) et **Crysez** (V.). — « Nouvelle préparation par cataphorèse d'un bactériophage purifié », *Mém. de la Soc. de Biol.*, 1931, t. CVII, p. 317.
Netter. — « Interprétation de la loi du 25 avril 1895, relative à la préparation, à la vente et à la distribution des sérums thérapeutiques et autres produits analogues, au nom de la Commission des sérums », *Bull. de l'Acad. de méd.*, 1924, t. XCII, p. 1205.
Petit, Goldenberg et **Panisset**. — « Sur la nécessité du contrôle des vaccins », *Bull. de l'Acad. de méd.*, 1927, t. XCVII, p. 139.
Ohba (S.) et **Takekawa** (H.). — « Contribution à l'étude du mode d'action des antivirus Besredka », *Mém. de la Soc. de Biol.*, 1930, t. CIII, p. 1069.
Plantureux (E.). — « Lyse transmissible; nature des agents (bactériolytes) et des anticorps; mécanisme », *Mém. de la Soc. de Biol.*, 1930, t. CIII, p. 387 et 488.
Renault (J.). — « Sur la révision de la loi du 25 avril 1895, sur les sérums thérapeutiques et divers produits médicamenteux

d'origine organique », *Bull. de l'Acad. de médecine*, 1930, t. CIV, p. 295.

Renaux (F.). — « Sur l'antivirus staphylococcique », *Mém. de la Soc. de biol.*, 1930, t. CIV.

— « Le problème de l'immunité locale », *Bruxelles médical*, 2 sept. 1928.

Rieux (J.). — « A propos du bactériophage », *Journ. des Praticiens*, 25 mai 1929.

Rosenthal (P.). — « Association antivirus-bactériophage », *Bull. de la Soc. de Biol.*, 1929, t. CII, p. 734.

— « Contribution à l'étude des antiphages », *Mém. de la Soc de Biol.*, 1929 t. C, p. 1009.

— « Nouvelle technique d'obtention du bactériophage », *Mém. de la Soc. de Biol.*, 1930, t. CV, p. 351.

— « Conservation du bactériophage à l'état sec », *Mém de la Soc. de Biol.*, 1930, t. CIV, p. 47.

Rossi (L.). — « De l'immunité locale par l'antivirus streptococcique incorporé à la lanoline dans la streptococcie expérimentale du cobaye », *Mém. de la Soc. de Biol.*, 1926, t. XCV, p. 943.

Sertic et **Bulgakov** (N.). — « Sur une méthode d'évaluation de la virulence du bactériophage », *Mém. de la Soc. de Biol.*, 1923, t. CXI, p. 564.

Simonin (P.). — « Altération des vaccins microbiens et protéotoxie », *Mém. de la Soc. de Biol.*, 1924, t. XCI, p. 1335.

Sosa (H.). — « Contrôle de la stérilité des produits injectables », *Mém. de la Soc. de Biol.*, 1930, t. CIV, p. 415.

Stassano (H.). — « Action nuisible du chauffage prolongé sur les microbes », *Mém. de la Soc. de Biol.*, 1925, t. XCIII, p. 1385.

Tzekhnewitzer (M.), **Goldenberg** (I.) et **Tzouverkalov**. — « Contribution à l'étude des antivirus *in vivo* », *Mém. de la Soc. de Biol.*, 1928, t. XCVIII, p. 428, et p. 357.

Wollman (M. et Mme). — « Bactériophagie », *Mém. de la Soc. de Biol. de Santiago*, séance du 9 juin 1930.

Womann (E.). — « Bactériophagie et processus similaires; hérédité ou infection », *Bulletin de l'Institut Pasteur*, 1928, t. XXVI, p. 1 et p. 49.

Statutory rules and orders, 1927, n° 486; therapeutic substances.

Bulletin des lois et circulaires concernant l'organisation médicale en Suède.

Extraits des lois et décrets relatifs à la fabrication des sérums et vaccins en Espagne.

Feuille de santé de l'Empire allemand, 1929.

Règlements pour la vente des virus, sérums et toxines pour le district de Colombia, 1923.

TABLE DES MATIERES.

Page

Avant propos 11

Introduction 13

Chapitre premier. — Lois et décrets relatifs à la fabrication et à la vente des sérums et vaccins en France 14

Chapitre II. — Des divers moyens de contrôle de la fabrication des produits d'origine microbienne 23

Chapitre III. — Etude des vaccins 30

Chapitre IV. — Etude des antivirus 53

Chapitre V. — Etude des bactériophages 69

Chapitre VI. — Extraits des législations étrangères concernant la fabrication et la vente des vaccins 84

Conclusions 95

Bibliographie 99

Bordeaux. — Imprimerie J. Bière, 18, rue du Peugue. — 1934